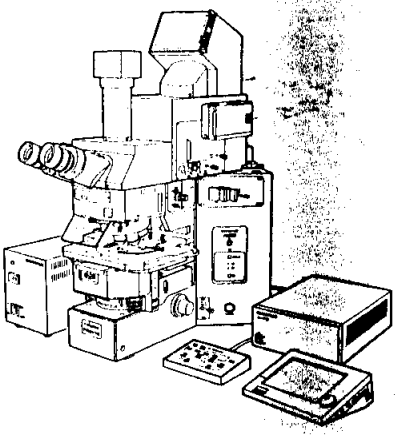
OLYMPUS®



取扱説明書

# AX80TR

## 最高級写真顕微鏡

No.4 落射蛍光観察編

No.4 落射

お願い

このたびは、オリンパス顕微鏡をご採用いただき、ありがとうございました。
本顕微鏡の性能を十分に発揮させるため、まずNo.1 組立編 の取扱説明書から、お読みください。次にこの取扱説明書に従って操作してください。

AX5927

# はじめに

この顕微鏡はUIS光学系を採用しておりますので、一緒に使用される顕微鏡鏡基、接眼レンズ、対物レンズ、コンデンサなどはUIS光学系シリーズのものをご使用ください。
組合わせが合っていないと、性能が発揮できません。
この取扱説明書は落射蛍光観察法のみを記載していますので、透過観察と併用する場合はNo.2 観察編 も熟読されて総合的な使用法をご理解ください。

ユニバーサル落射蛍光投光管の採用により、必要とされる各励起キューブがセットできます。また、次のような各種観察法との併用により細胞などのどの部分で発蛍光があるかを効率よくさがし出すことが可能です。

1．落射蛍光観察＋透過位相差観察
2．落射蛍光観察＋透過ノマルスキー(微分干渉)観察
3．落射蛍光観察＋各種透過観察

## 1 ご使用にあたって

1) 本装置は精密機器ですので衝撃を与えないないよう、丁寧に取扱ってください。
2) 鏡基の設置は、ランプハウスが熱くなりますので、ランプハウスの周囲、特に上面・底面には十分な空間を確保してください。
3) 超高圧水銀ランプは、オリンパス供給の直流用のUSH102D(ウシオ電機製)をご使用ください。
水銀ランプ用電源装置はオリンパスBH2－RFLT3をご使用ください。
4) ランプが取付けてあること、及びコード類が確実に接続されていることを確認してください。
5) 水銀ランプの紫外線は有害ですので励起光は直接見ないようにし、必ず紫外線カット板を通して見るようにしてください。(７頁参照)
6) 点灯中及び消灯後10分以内は内部が非常に熱くなっていて危険なのでランプハウスを開けないでください。(５頁参照)
7) 各機能に備えられているストッパは無理な力を加えると破損することがありますのでご注意ください。
8) 電源装置内部に高電圧部がありますので分解をしないでください。
9) 安全のため電源装置のアースをしてください。
10) ランプの交換などでランプハウスを開ける場合はメインスイッチをOFFにし、電源装置のランプハウスへの出力コネクタを外し、10分間待ってランプが冷えてから行ってください。
11) 電源コードを電源に差込む場合、電源装置のメインスイッチがOFFになっていることを確認してください。

## 2 手入れ、保存について

1) レンズ・フィルタ類及び光源ランプ(超高圧水銀ランプ)には汚れ、指紋などを絶対に付けないようにしてください。汚れた場合にはガーゼで軽く拭く程度にし、指紋や油脂類の汚れはアルコール(3)：エーテル(7)の混合液または、キシレンをわずかにガーゼにふくませ拭いてください。
各部の清掃は有機溶剤を避け、特にプラスチック部は稀釈した中性洗剤を柔らかい布にわずかに含ませて拭いてください。
★エーテルなどは引火性が強いので、取扱いや、火気、メインスイッチのON－OFFなどには十分注意してください。
2) 各部をみだりに分解しないでください。
3) 水銀ランプの寿命は200時間です。電源装置のライフメータが200時間を表示しましたら、ランプを交換してください。(６頁参照)
4) 使用しない時は、必ずダストカバーをかぶせ、湿気がないカビの発生しにくい場所に保管してください。
5) ダイクロイックミラーキューブは、しばらく使用しない場合には、キューブケースに格納して保管してください。

## 3 安全性に関するシンボルマーク

本顕微鏡には以下のマークが付いています。
マークの意味をご理解いただき、安全な取扱いを行ってください。

| マーク | 意味 |
|---|---|
| | 表面が熱くなっていますので手を触れないでください。<br>やけどをする危険があります。 |
| | 使用する前に必ず取扱説明書をお読みください。 |
| | 火災の危険がありますので、ヒューズ交換をする際は、必ず指定のヒューズをご使用ください。 |
| | 出力コネクタです。 |
| | 透過照明を意味します。 |
| | 落射照明を意味します。(ハロゲンランプ使用時) |
|  | メインスイッチがON状態です。 |
|  | メインスイッチがOFF状態です。 |
| | サブメインスイッチのスタンバイ・リモートON/OFF機能を示します。 |

## 4 注 意

本顕微鏡を取扱説明書に記載されている以外の方法で使用されますと安全が保証できず、更に故障のおそれがあります。この取扱説明書に従ってご使用ください。

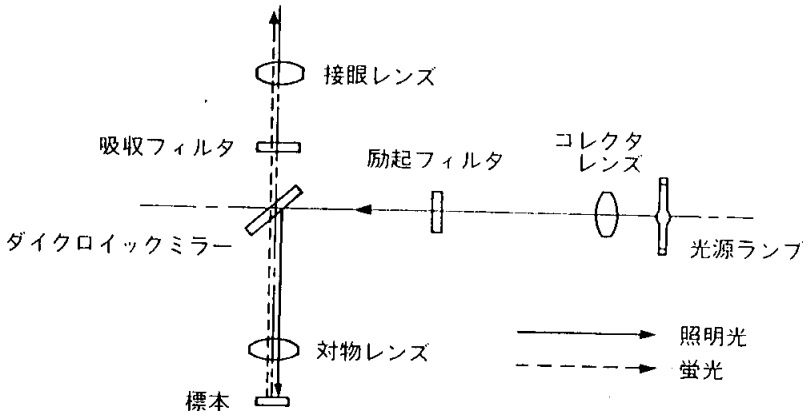
# 目次


| | | 頁 | |
|---|---|---|---|
| 1 | 原　理 | 1 | 1 |
| 2 | 各モジュールの名称 | 2 | 2 |
| 3 | 組立て方 | 3 | 3 |
| | 3-1　組立て概略図 …… 3 | | |
| | 3-2　組立て手順詳細 …… 4 | | |
| | 3-3　環境データ(INIT.)の設定 …… 9 | | |
| 4 | 主要操作部の名称 | 13 | 4 |
| 5 | 落射蛍光観察手順の要約 | 18 | 5 |
| 6 | 各部の操作方法 | 20 | 6 |
| | 1 電源の点灯 …… 20 | | |
| | 2 視野絞りの心出し …… 21 | | |
| | 3 水銀ランプの心出し …… 22 | | |
| | 4 落射コンバージョンレンズ(AX−UCV)の使い方 …… 24 | | |
| | 5 透過落射ハンドスイッチの使い方 …… 24 | | |
| | 6 マルチコントロールボックス(U−MCB)の操作 …… 25 | | |
| | 7 各観察法と対物レンズの組合わせ一覧表 …… 27 | | |
| | 8 キューブの選定 …… 28 | | |
| 7 | 落射蛍光観察法 | 30 | 7 |
| | 7-1　落射蛍光観察 …… 30 | | |
| | 7-2　落射蛍光と位相差の同時観察 …… 31 | | |
| | 7-3　落射蛍光と透過ノマルスキー微分干渉の同時観察 …… 31 | | |
| 8 | フィルタ分光特性 | 32 | 8 |
| 9 | 使用中に生じた問題とその処置 | 36 | 9 |

# 1 原理

落射蛍光顕微鏡の構造の特徴は下図のように、ダイクロイックミラーによって励起光を対物レンズを介して標本に照射し、効率のよい蛍光観察を行う点です。

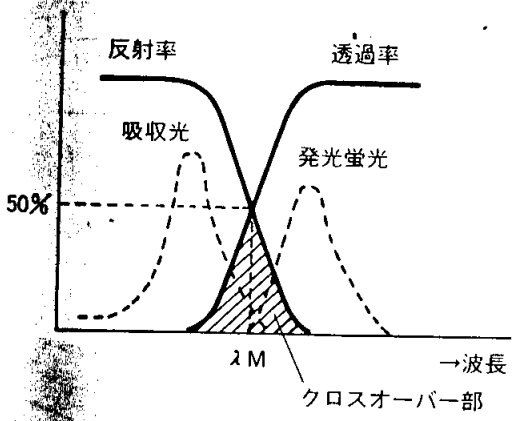





このダイクロイックミラーは45°入射の場合、その分光特性は左図のようになっています。しかし反射光と透過光のクロスオーバー部分があるので、励起フィルタ、吸収フィルタを併用しなければよい像コントラストは得られません。

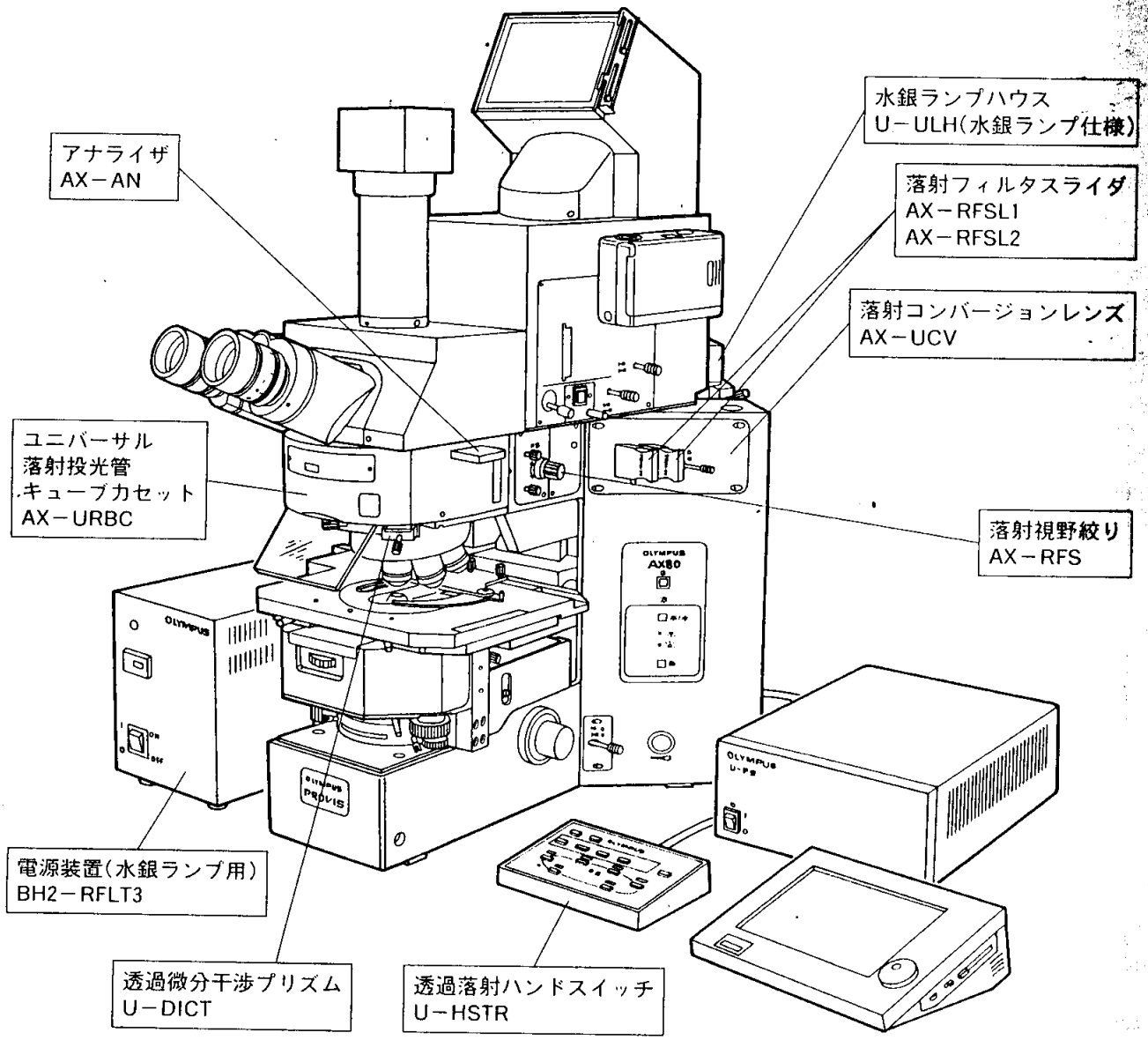
このように45°に斜設されたダイクロイックミラーに励起光が入射すると励起光帯だけが対物レンズに向かってほとんど反射され他は透過します。

一方蛍光の発光波長はStokesの法則により励起光のそれより長波長側にシフトを起こしているので、ダイクロイックミラーではそのほとんどの光量が透過して接眼レンズに達することになります。



★AX80落射蛍光関連モジュールのみご説明しています。





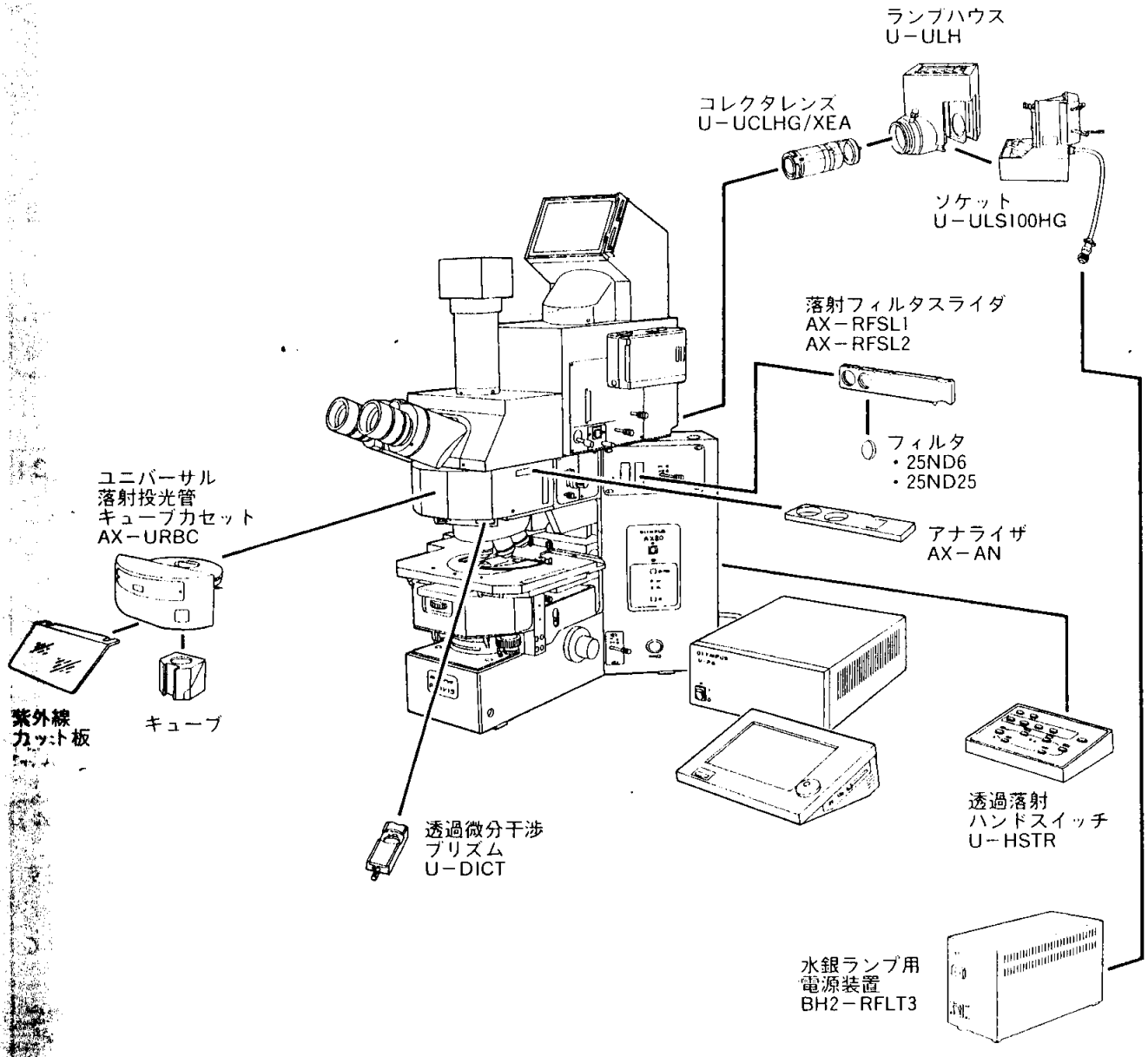
# 3

## 3-1　組立て概略図

下図はAX80Tに落射蛍光モジュールの取付方を示したものです。下図以外についてはNo.1 組立編 をご参照ください。

★取付ける際は、各取付部のゴミ、ほこりを取除き、キズを付けないよう慎重に行い、通電状態での組立ては絶対に行わないでください。





## 3-2 組立て手順詳細

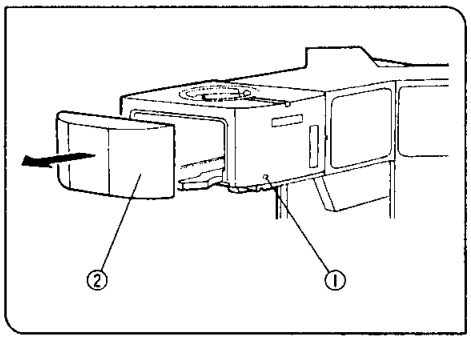


図 1

### 1 キューブの取付け （図1,2）

1）投光管のキューブカセット固定ねじ①を鏡基付属の六角ドライバでゆるめて、カバー②を取外します。

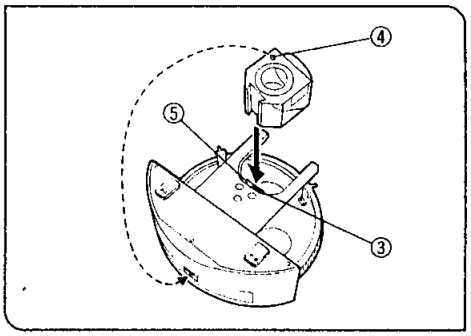


図 2

2）キューブカセットを逆向きに置きます。
3）キューブ固定ねじ③を六角ドライバでゆるめます。
4）取付けるキューブを指標④が付いている方を上にして、キューブアリ⑤に挿入し、突当て位置でキューブ固定ねじ③を締付けます。
5）キューブの指標④をシャープペンシルの先端などで外し、ターレット正面位置へ貼付け(マグネット吸着)ます。

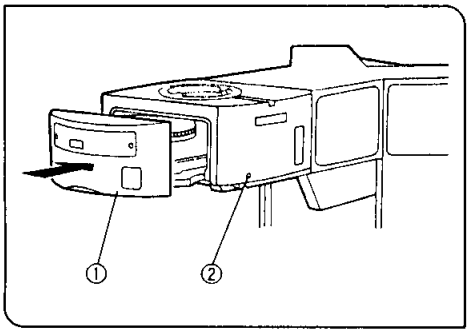


図 3

### 2 キューブカセットの取付け （図 3）

キューブの取付いたキューブカセット⑴を投光管へ取付け、キューブカセットを挿入方向へ押付けた状態で固定ねじ⑵を締付けます。

★落射蛍光観察を行う場合、キューブねじを必ず締込んでおきます。ゆるんでいますとねじの頭がターレット回転時に干渉することがあります。

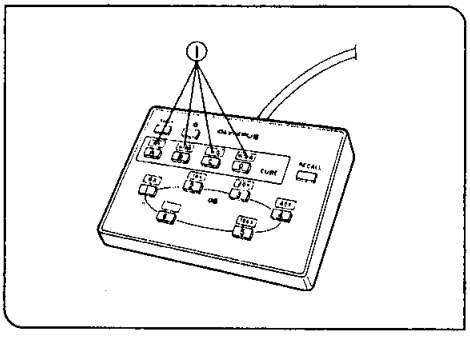


図 4

### 3 キューブシールの貼付け （図 4）

1）ハンドスイッチのキューブ表示⑴へ取付けたキューブに対応するシールを貼付けます。
2）キューブを取付けない位置には、表示のないシールを貼付けてください。

◎シールの粘着度は弱くしてありますので、横にズラすと簡単に貼替えできます。

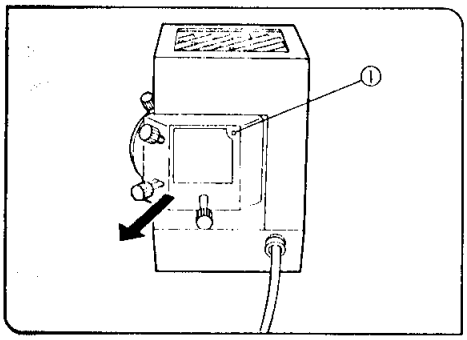



図 5

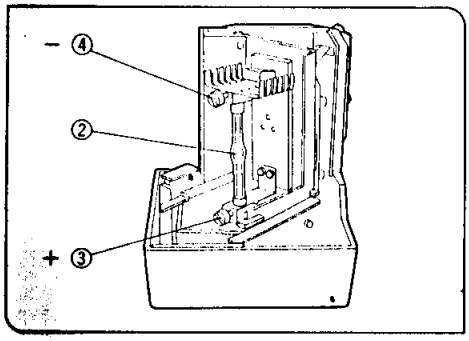



図 6

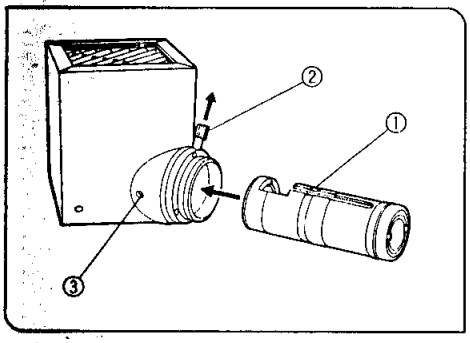



図 7

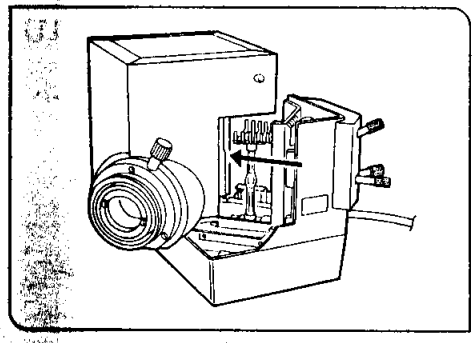


図 8

## 4 水銀ランプハウスの組立て

### 水銀ランプの取付け

1）鏡基付属の六角ドライバでソケット固定ねじ1をゆるめます。
2）ランプハウスとソケット部を矢印のように取外します。(図５)
3）輸送用ランプ座保持具をランプ固定ねじ３、４(図６)をゆるめて取去ります。(ランプ交換の場合は、古いランプを外します。)
4）水銀ランプ2の＋極を下にして、＋極をねじ3で締付けます。次に－極(UPと表示)のねじ4をゆるめておき、ランプソケットの－極側の取付け穴にランプの－極側を入れ、ねじ4で確実に締付けます。(図６)

★ランプは必ずUSH102Dを使用してください。
★ランプに指紋、汚れが付着しないようにご注意ください。汚れた場合はアルコール(3)：エーテル(7)の混合液または、キシレンをガーゼに含ませてランプ表面をきれいに拭いてください。
★ランプ破損防止のため、ソケットとランプハウスを外してからでないと、コレクタレンズの着脱はできません。

### コレクタレンズの取付け

1）コレクタレンズ位置決め溝①を中のピンに合わせコレクタレンズフォーカスつまみ②を引上げ突当てまで押込み、つまみ②を元にもどし、この時つまみを回すとコレクタレンズが前後していることを確認します。移動しない場合はコレクタレンズを手で前後に動かしてカチッと入る所をさがします。
2）コレクタレンズの固定ねじ③を締付けてください。(図７)
3）ランプソケットを 4 －1)の逆の要領でランプハウスにもどします。(図８)
4）六角ドライバでソケット固定ねじ1を締付けます。(図５)

★ランプ点灯中に、誤ってソケット固定ねじ①をゆるめると安全装置が働き、ランプは消灯します。再点灯する時は、電源装置のメインスイッチをOFFにし、安全のため電源装置のランプハウスへの出力コネクタを外し、10分程待ち、ソケット固定ねじ①を確実に締付けてから、メインスイッチをONにしてください。(図５)

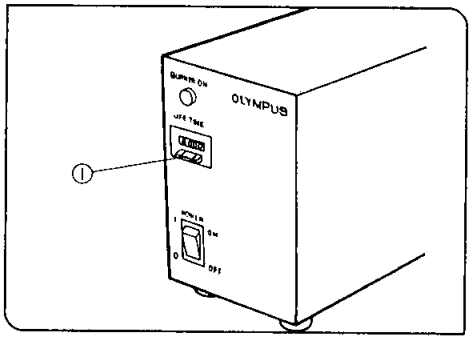



図 9

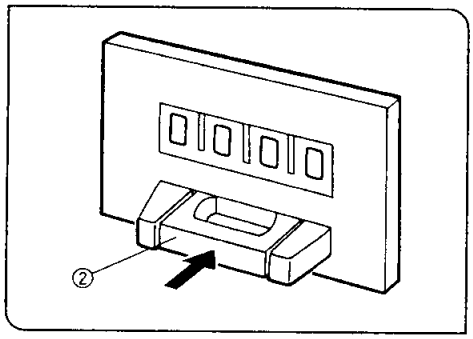



図 10

ライフメータのセット

1）前面パネルのリセットボタン(図9①)の中央部(図10②)を押して表示を「000.0」にしてください。

◎「000.0」の単位は時間です。ランプの寿命は200時間ですので、「200.0」時間になりましたら、安全のため、ランプを交換してください。

水銀ランプの交換について

(1)水銀ランプは、寿命が200時間です。寿命を超えるとランプ部が爆発する可能性があります。200時間使用しましたら、安全のため新しいランプと交換してください。

(2)安全のため、消灯後10分以上経過し、メインスイッチがOFFになっていることを再確認して電源装置のランプハウスへの出力コネクタを外してからランプを取出してください。交換方法は5頁をご参照ください。

(3)ランプを交換したら、ライフメータのセットと同様の操作によってライフメータを「000.0」にセットしてください。

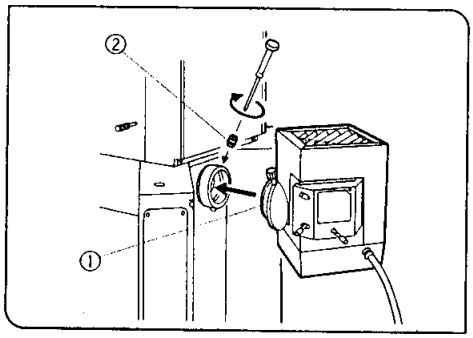



図 11

## 5 ランプハウスの取付け （図 11）

1）水銀ランプハウスのコレクタレンズ部①を落射投光管に挿入し、クリック位置まで押込みます。

2）コレクタレンズ部固定ねじ②を六角ドライバで締付けます。

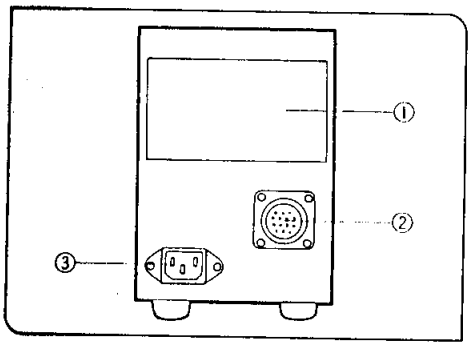



図 12

## 6 水銀ランプ用電源装置のセット (図 12)

1）使用する入力電源の電圧、周波数が、銘板1に記載されている範囲内に含まれていることを確認してください。
（100V系は100～120V、50～60Hzの範囲なら使用できます。）
2）接続コードを電源装置のコネクタ2へ確実に接続します。
3）電源装置の入力コネクタ3に電源コードを取付け、電源プラグを電源コンセントに差込みます。

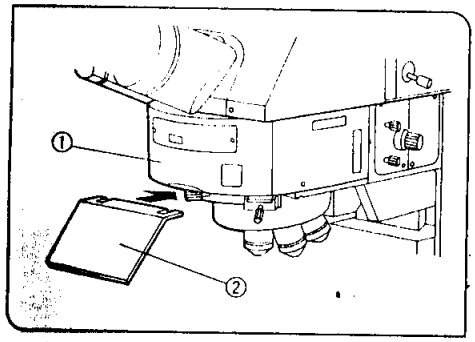



図 13

## 7 紫外線カット板の取付け (図 13)

キューブカセット1下側の板バネに紫外線カット板2をはさみ込みます。
★板バネのピンと紫外線カット板の溝とを合わせます。

## 8 ハンドスイッチ(U−HSTR)の接続

ハンドスイッチのコネクタを鏡体後面のHSTR/HSコネクタへ確実に接続します。

## 9 オプションキューブ

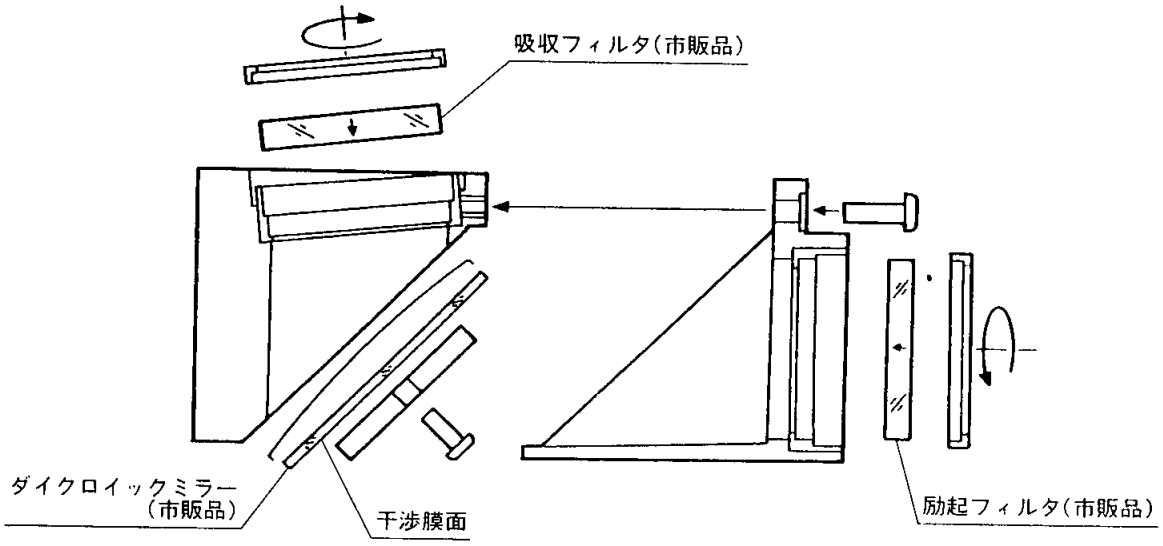
◎市販の吸収フィルタ、励起フィルタ、ダイクロイックミラーを使用してオプションキューブを作ることができます。

キューブ光学部品の寸法条件

- 吸収フィルタ
- 励起フィルタ

} 直径24.8～24.9mm　最大厚さ6mm

- ダイクロイックミラー　25.7～25.9×37.7～37.9mm　厚さ0.95～1.05mm

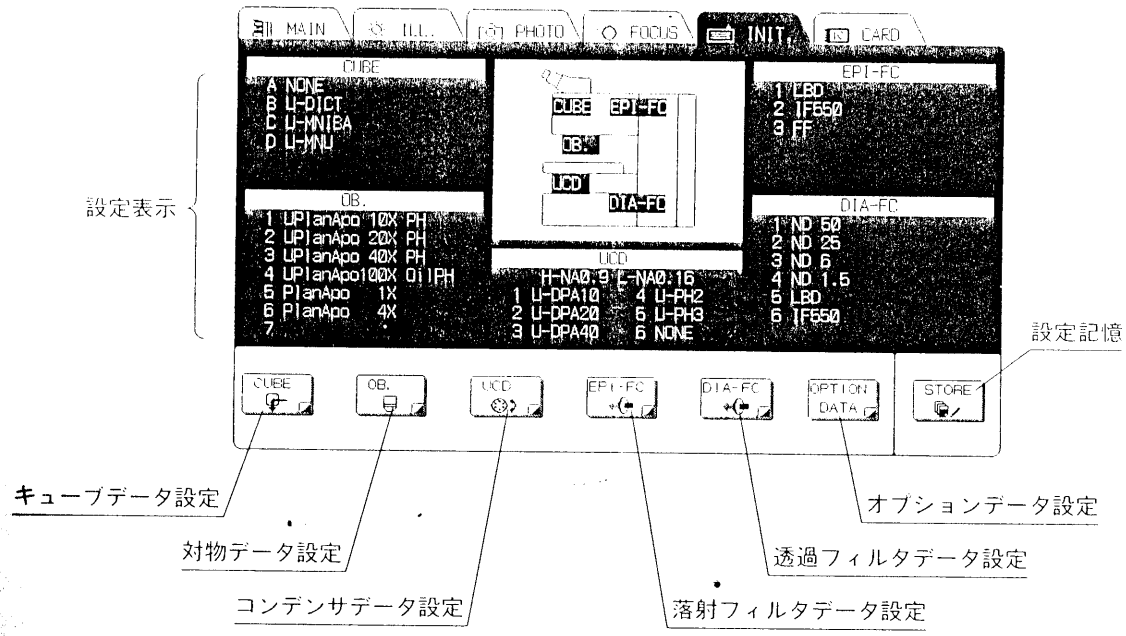



★ダイクロイックミラーの交換時は、指紋などを付けて汚さないように特に注意してください。

# 3-3 環境データ(INIT.)の設定

INIT.設定画面

初期設定操作画面です。関連モジュールが取付いていなくても設定可能です。
詳細は、No.1 組立編 をご覧いただきますが、ここでは落射蛍光に関する設定をご説明いたします。



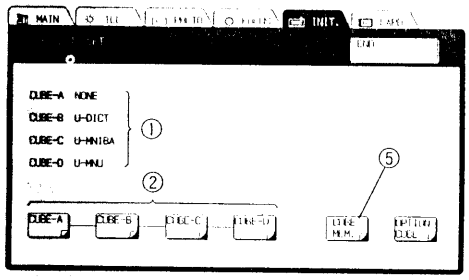




図 14

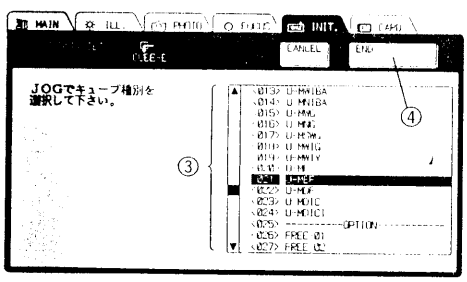



図 15

## 1 キューブデータの設定(CUBE)

1) INIT.設定画面の CUBE スイッチ(以後スイッチは略します)を押すと、図14のキューブデータ設定画面となります。データ①が現状の設定値を表示しています。
2) 設定するキューブ記号②を押すと、図15の画面となり指定されたキューブ記号のキューブが光路に挿入されます。
3) 光路に挿入されたキューブ名③をJOGダイヤルを回して選択します。
4) END ④を押すと、1つ目のキューブ名が設定され、前画面にもどります。
5) つづけて、必要キューブを設定します。

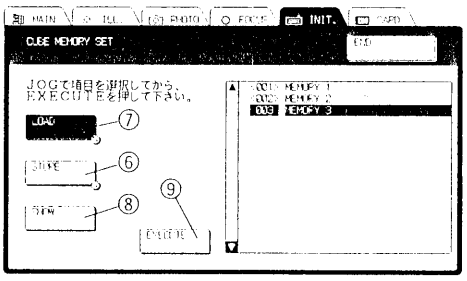



図 16

メモリー呼出し・登録・確認　（図14, 16）

・◎現在の設定値を１セット（キューブ４ヶ分）のデータとして、呼出し・登録・確認する時に使用します。

《登録》

1）CUBE MEM.（⑤（９頁図14）を押すと、図16の画面となります。
2）STORE（⑥を押し、JOGダイヤルで登録したいメモリーNo.を選択します。
3）EXECUTE（⑨を押すと、確認画面がでますのでOKの場合はENTERを、間違った場合はCANCELを押します。
4）END を押すと、登録され、前画面にもどります。

《呼出し》

1）CUBE MEM.（⑤（９頁図14）を押すと、図16の画面となります。
2）LOAD（⑦を押し、JOGダイヤルで呼出ししたいメモリーNo.を選択します。
3）EXECUTE（⑨を押すと、カーソル位置のデータが呼出されます。
4）END を押すと、前画面にもどります。

《確認》

1）CUBE MEM.（⑤（９頁図14）を押すと、図16の画面となります。
2）JOGダイヤルで確認したい（表示したい）メモリーNo.に合わせます。
3）SHOW（⑧を押すと、現在選択されているメモリー詳細内容を表示します。
4）もう一度SHOWを押すと、前のメモリーNo.表示画面にもどります。
5）END を押すと、元の画面にもどります。

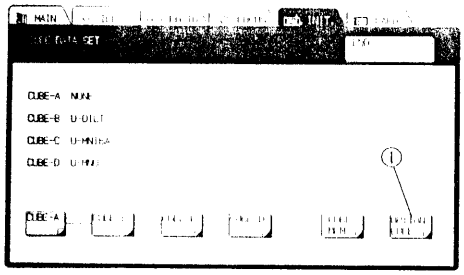



図 17

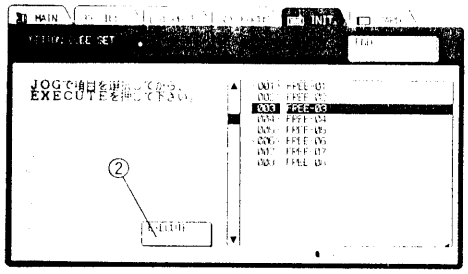



図 18

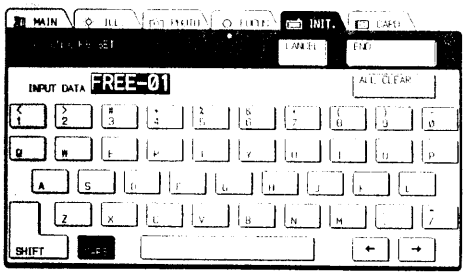



図 19

オフションキューブの名称登録　（図17, 18, 19）

◎ユーザーが任意のキューブ名称をシステムデータの一つとして登録する画面です。

1）[OPTION CUBE]-1（図17）を押すと、図18の画面となります。

2）JOGダイヤルで登録する位置を選択します。

3）[EXECUTE]-2 を押すと、図19のキーボード画面となります。

4）任意名称を１文字ずつ押して入力していきます。入力可能文字数は最大７文字です。

★すべて、空白（スペース）の設定はできません。

キーの説明

・[CAPS] ……アルファベットの大文字／小文字切換え（連続）
　反転（点灯）　：大文字
　そのまま（消灯）：小文字
・[←][→]……カーソル移動キー
・[SHIFT] ……アルファベットの大／小文字切換え（単発）と数字キー上側の記号設定
　[SHIFT]を押すと、反転表示し、１文字押すと元にもどります。

5）名称が入力できたら、[END]を押し、確認画面の[ENTER]または[CANCEL]を押します。
・[ENTER]では図18の画面にもどり、画面には登録した任意名称が表示されます。
（[CANCEL]ではキーボード画面にもどります。）

6）[END]を押すと、前画面にもどります。

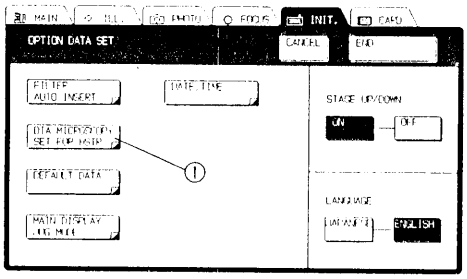



図 20

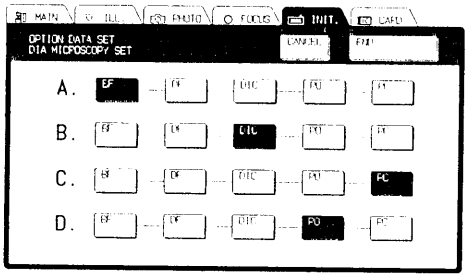



図 21

## 2 落射フィルタデータの設定(EPI−FC)

★AX80ではオプションの電動フィルタ装置は、使用できません。
出荷時 NONE にセットされていますが違っていましたら NONE にします。

## 3 ハンドスイッチ(U−HSTR)の透過検鏡法設定

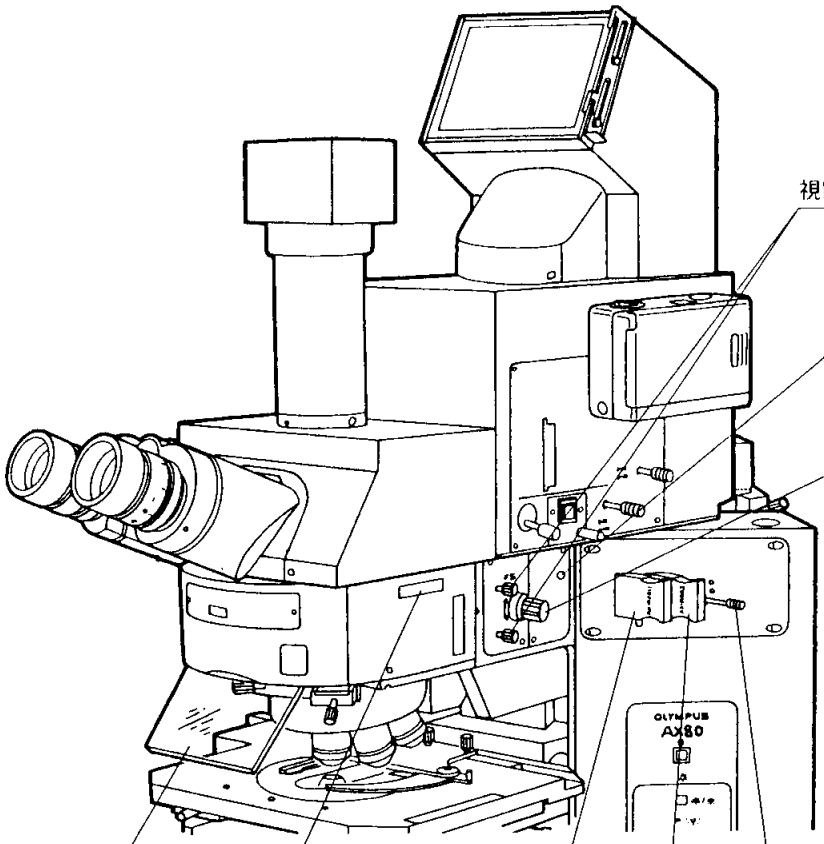
◎ハンドスイッチの空キューブ位置のスイッチに割り当てる、透過検鏡法を設定できます。
なお、キューブが設定されている場合は、キューブに対応した検鏡法のスイッチとなります。

1) INIT.設定画面の OPTION DATA を押すと、図20のオプションデータ設定画面となります。
2) DIA MICROSCOPY SET FOR HSTR (①)を押すと、図21の検鏡法の設定画面となります。(図20)
3) ハンドスイッチ(U−HSTR)の空キューブスイッチ位置(キューブなし)に必要な検鏡法を押して、設定します。
4) つづけて、他の空キューブスイッチ位置に必要な検鏡法を設定します。
5) END を押すと、前画面にもどります。

★この設定により、ハンドスイッチのキューブ切換えが、検鏡法切換えとして機能しますので、ハンドスイッチのCUBE文字部分に付属の MICROSCOPY のシールを貼付けてください。

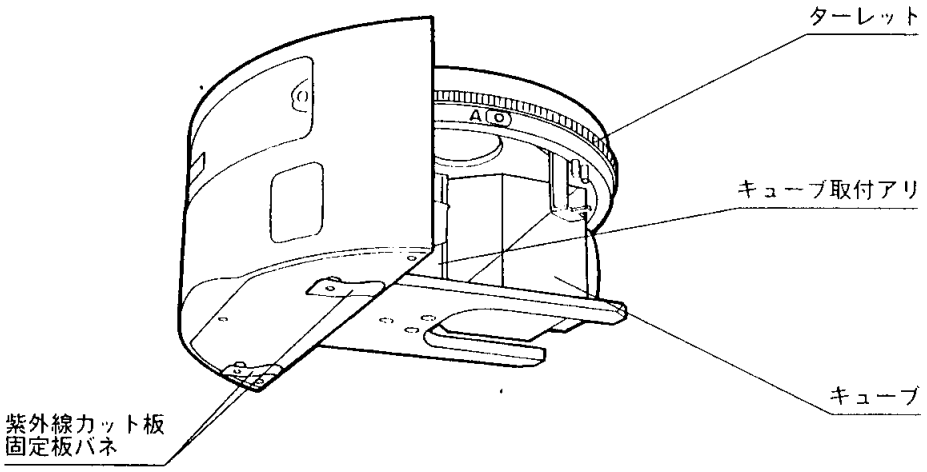
# 4 主要操作部の名称

## A. 落射投光管部

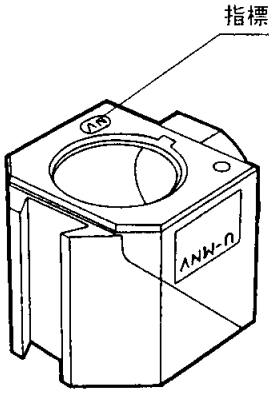



*励起光シャッタ開放ねじは、強制的にシャッタを開放するねじです。このねじは絶対に回さないでください。
シャッタが作動せず大変危険です。

## B．キューブ力セット(AX−URBC)

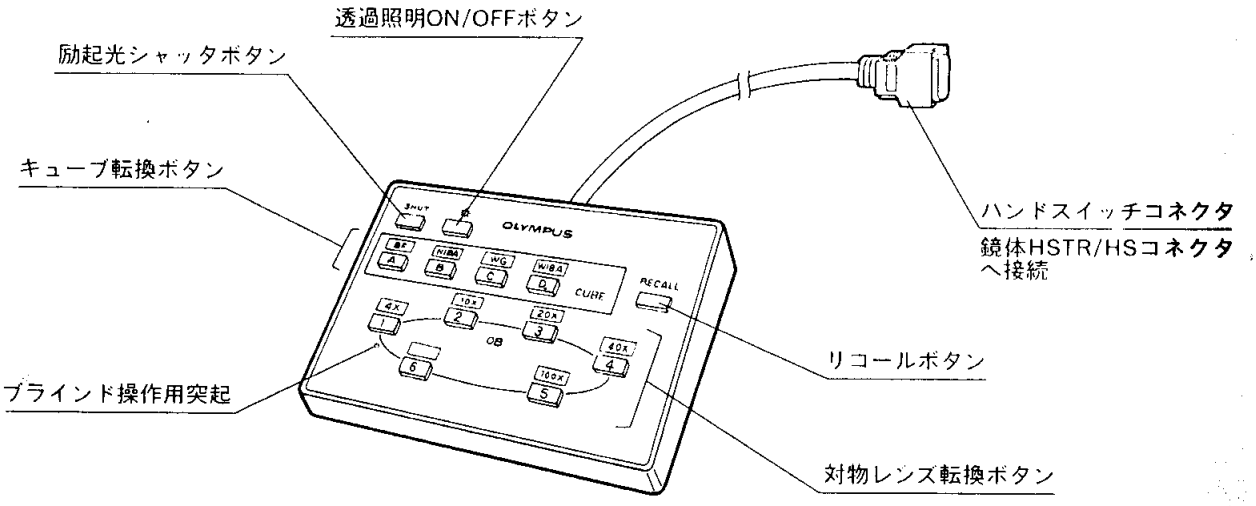



## C．キューブ



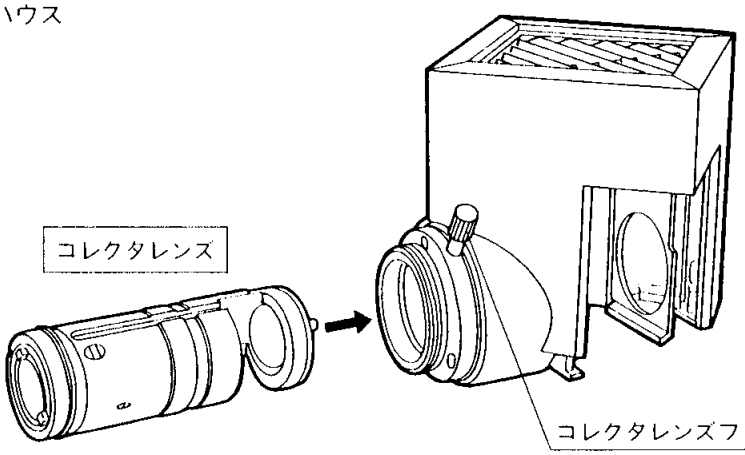

★各励起法に適した、ダイクロイックミラー、吸収フィルタと励起フィルタで組合わされています。
分解しないでください。

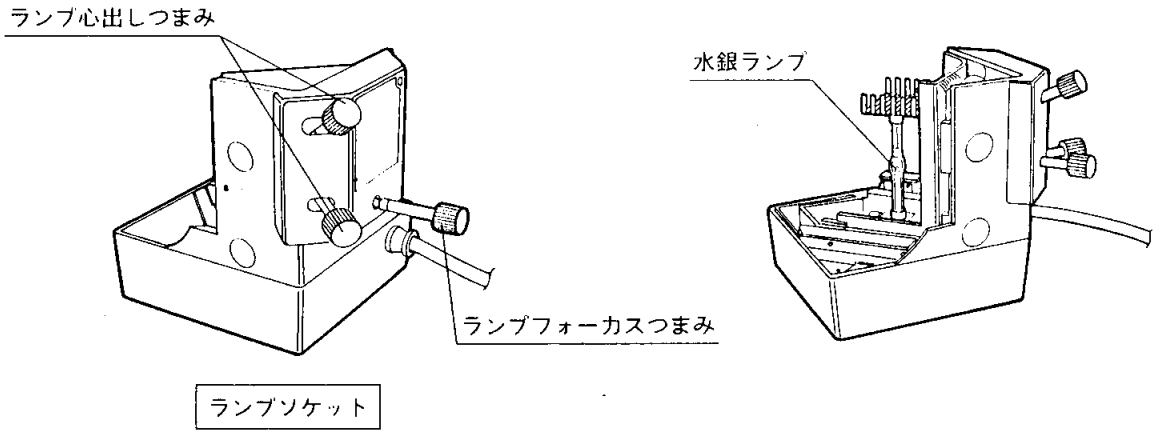
## D．透過落射ハンドスイッチ(U−HSTR)



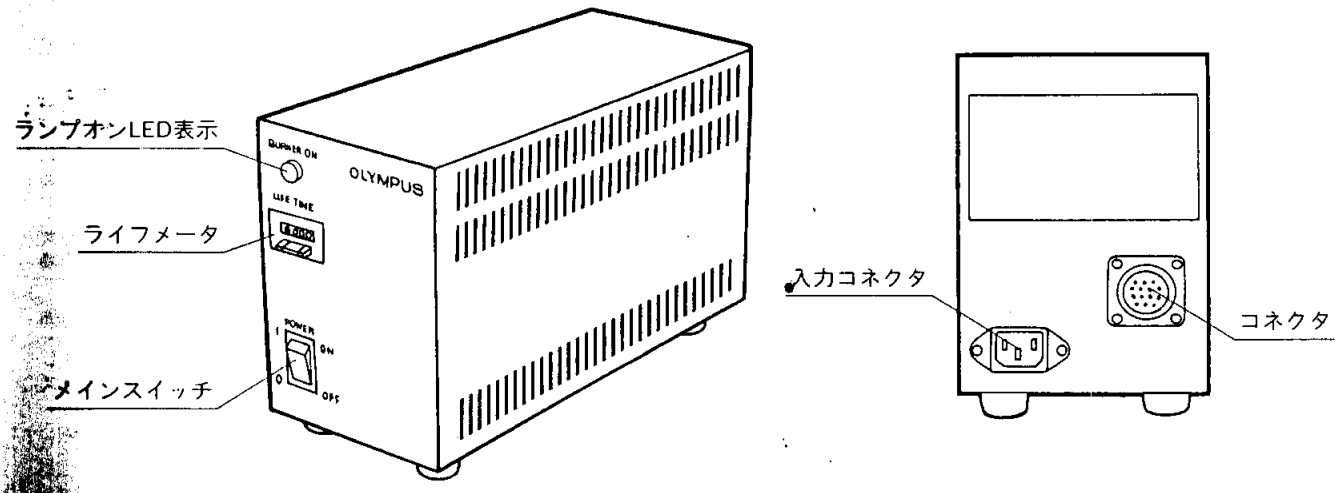
## E. 蛍光光源装置

●水銀ランプハウス



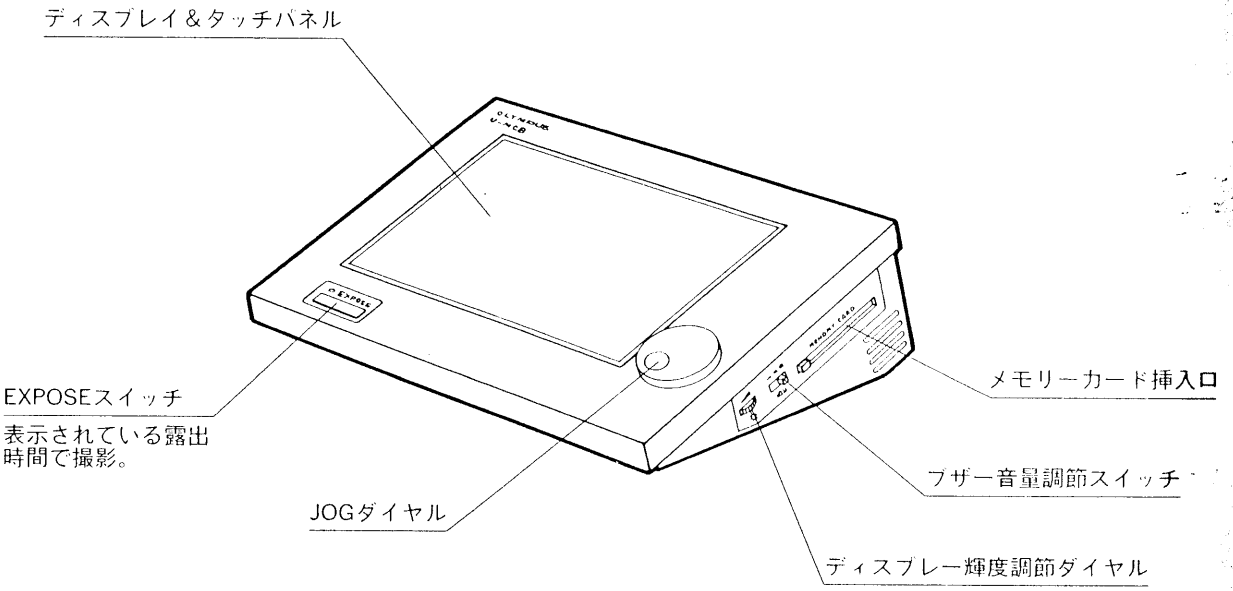




●水銀ランプ用電源装置

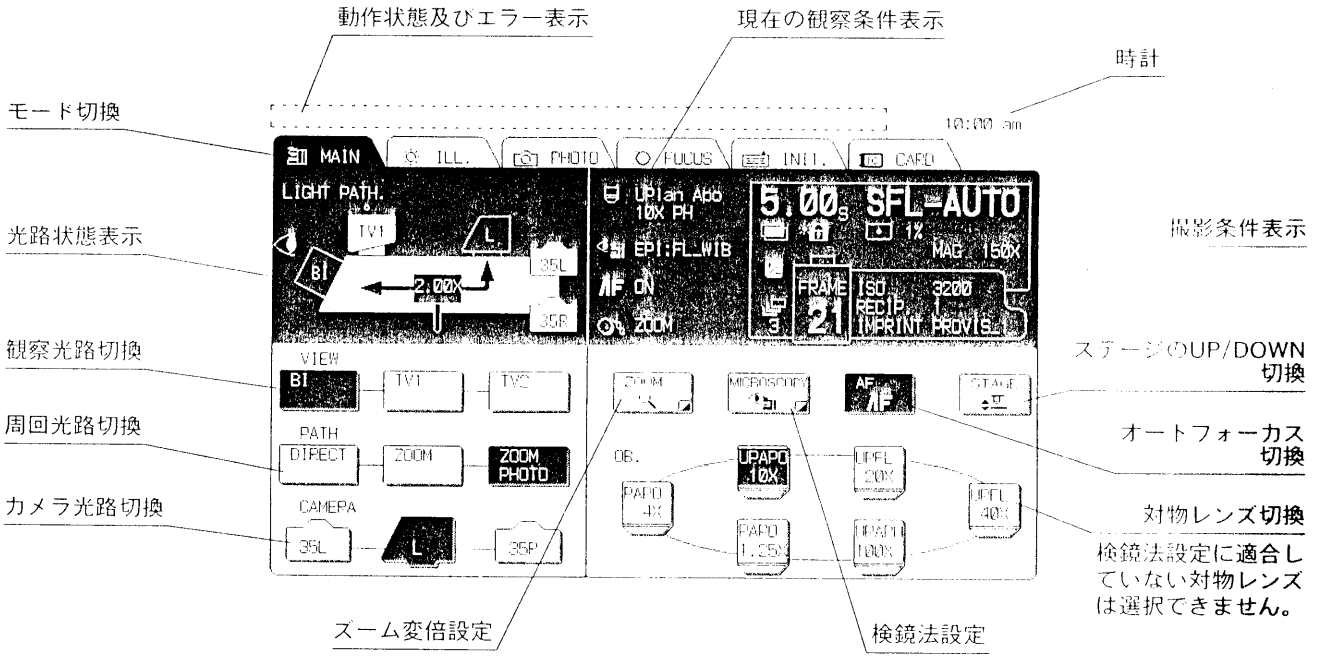


## F．マルチコントロールボックス(U－MCB)

◎ここでは、概略のみご説明いたします。詳細はNo.2 観察編 をご参照ください。

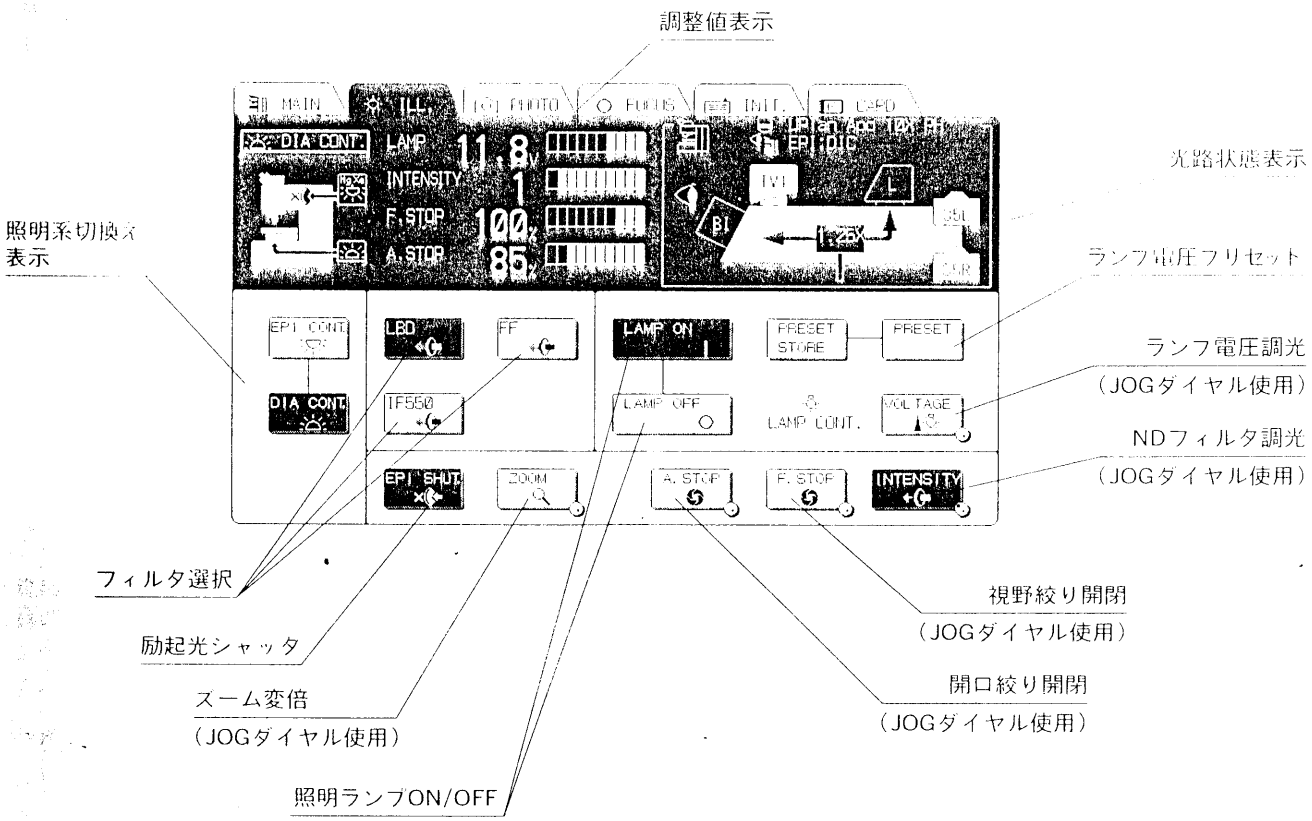



## MAIN操作画面



## ILL.操作画面

◎透過検鏡時は透過のコントロール、落射の時は落射のコントロールができます。透過検鏡時は開口絞り、視野絞り、NDフィルタ、フィルタ類は検鏡に適した最適値に自動設定されます。

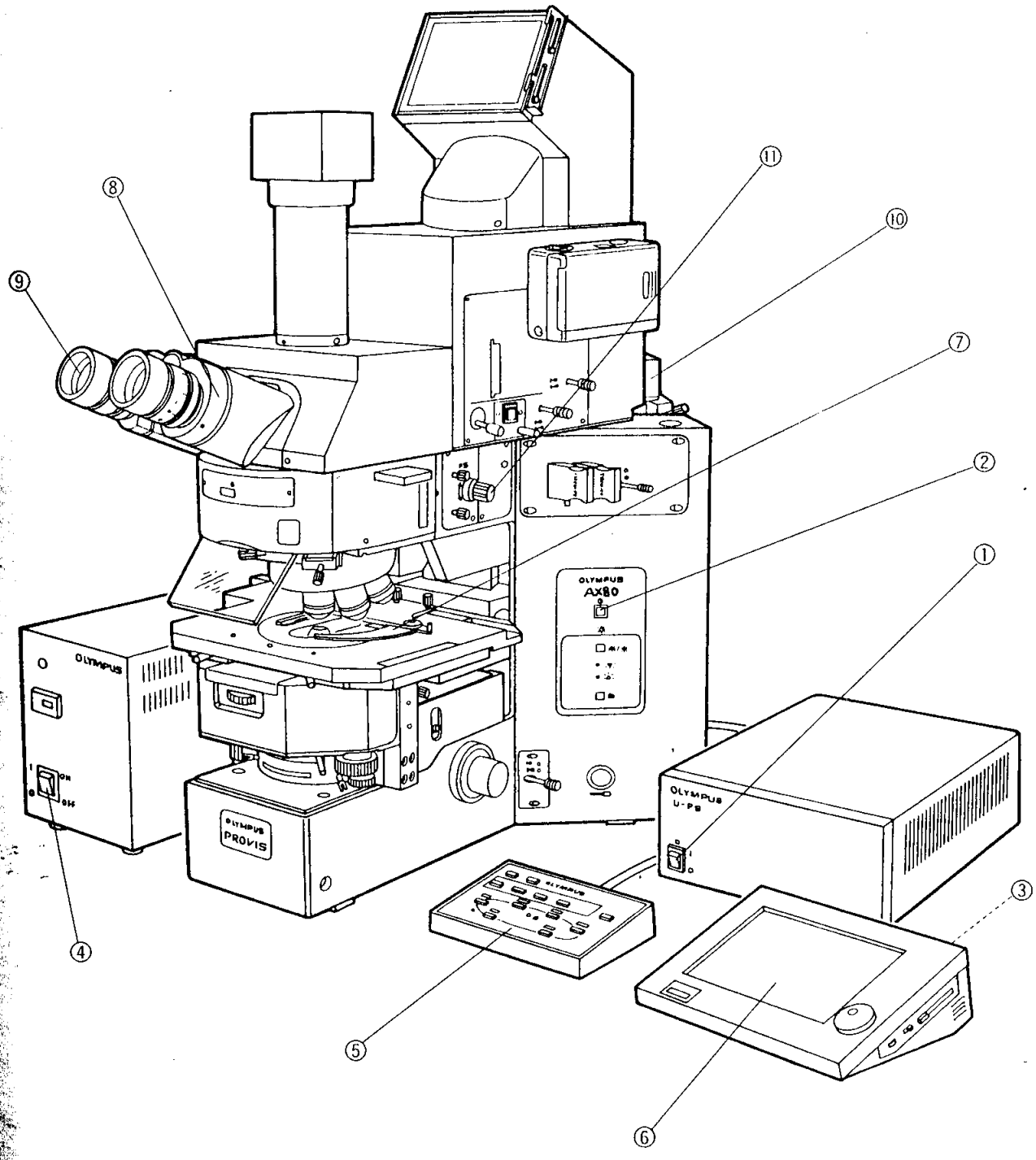


# 5

| | | (操作部位) | (参照頁) |
|---|---|---|---|
| 各メインスイッチをONにする | (1) | 電源装置(U-PS)メインスイッチ | (20頁) |
| | (2) | 鏡基サブメインスイッチ | |
| アーク像が安定するまで点灯後5～10分待つ<br>(U-HSTRまたはILL.画面で励起光シャッタを閉じる) | (3) | U-MCBサブメインスイッチ | |
| | (4) | 水銀ランプ用電源装置メインスイッチ | (20頁) |
| キューブを光路に入れる | (5) | ハンドスイッチまたは | (24頁) |
| | (6) | U-MCB | (25頁) |
| U-HSTRまたはMAIN [MICROSOPY] 画面で観察に使用するキューブを選択 | | | |
| 観察光路を設定する | (6) | U-MCB | (25頁) |
| MAIN画面でVIEW [BI]、PATH [DIRECT] にする | | | |
| 標本をセットする | (7) | クレンメル | |
| 対物レンズを選択する | (5) | ハンドスイッチまたは | (21頁) |
| | (6) | U-MCB | |
| U-HSTRまたはMAIN画面で使用する対物レンズを選択 | | | |
| 励起光シャッタを開く | (5) | ハンドスイッチまたは | (24頁) |
| | (6) | U-MCB | (25頁) |
| U-HSTRまたは、ILL.画面でシャッタを開く | | | |
| 眼幅調整 | (8) | 双眼部 | |
| 視度調整 | (9) | 接眼レンズ | |
| 光軸調整 | (10) | ランプハウス | |
| 水銀ランプの心出し、視野絞りの心出し | (11) | 視野絞り | (21頁) |
| コレクタレンズ・視野絞りを調整する | (10) | ランプハウスコレクタレンズ | (23頁) |
| | (11) | 視野絞り | (21頁) |

観　察

- ピントを合わせる
- TV観察はMAIN画面でVIEW [TV] にする
- 透過検鏡併用時はMAIN画面の [MICROSCOPY] を押して [MULTI] から選択する


⑪
⑧
⑩
⑨
⑦
②
①
③
④
⑤
⑥
OLYMPUS
AX80
OLYMPUS
PROVIS
OLYMPUS
U-PS

◎観察に際しての全般的注意事項

1．使用する入力電源の電圧・周波数が銘板に記載されている範囲内に含まれていることを確認してください。
2．電源コード、接続コードが確実に接続されていることを確認します。
3．透過位相差・透過微分干渉観察のみを行う必要がある場合はキューブを１ヶ所取付けないターレットを作っておきます。これにより本来の色再現が可能です。
4．視野絞りは視野に外接するまで絞って使用し、心がずれている場合は心出しつまみで調節してください。
5．油浸対物レンズは必ずイマージョンオイルを使用してください。
6．補正環付のUPlanApo40×，PlanApo40×はカバーガラスの厚さのバラツキによる解像力の低下を補正できます。
（補正の方法）補正環を回しながら微動ハンドルでピントを合わせ、解像がベストになる位置を捜します。
補正可能なカバーガラスの厚さは0.11～0.23mmまでです。
7．観察中に短時間の中断をする場合は、励起光シャッタを活用してください。
（水銀ランプのON－OFF操作は寿命を著しく短くします。）
8．キューブカセットを取外す時は、電源装置及び水銀ランプ用電源装置のメインスィッチをOFFにして行ってください。
ON状態では、紫外光が直接、体に照射され危険です。
9．フィルタスライダ挿入口には、フィルタスライダ以外の物を挿入しないでください。
特にランプ点灯中は高温となり危険です。

## 1 電源の点灯

電源装置と水銀ランプ用電源装置のメインスイッチをONにします。水銀ランプは点灯後５～10分でアークが安定します。

★水銀ランプのバラツキにより、一度の操作で点灯しない場合があります。点灯しない場合は、一度メインスイッチをOFFにして５～10秒後に再度ONにする操作を行ってください。

★ランプの寿命に影響しますので点灯後15分以内は、消灯しないでください。

★再点灯の際は、水銀蒸気が冷えて液化するまで点灯できません。10分程待ってから点灯してください。

★ランプの交換などでランプハウスを開ける場合はメインスイッチをOFFにし、電源装置のランプハウスへの出力コネクタを外し、10分間待ってランプが冷えてから行ってください。
（誤って点灯中にランプハウスを開けた場合でも、安全のため通電が止まりますが、このご使用はお避けください。）

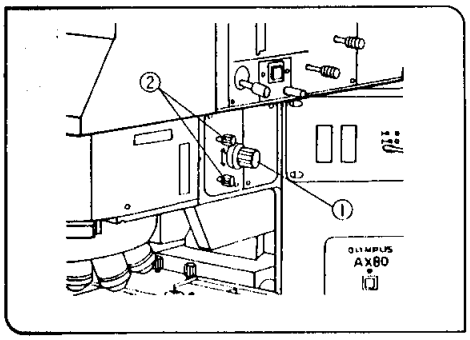



図 22

## 2 視野絞りの心出し (図22, 23)

◎ハンドスイッチの操作はU－MCBの画面でも同様に操作できます。

1）10×対物レンズをハンドスイッチで押して、光路に入れます。
2）ハンドスイッチのキューブ転換ボタンを押し、Bまたは旧励起キューブを光路に入れます。
3）標本をステージにのせて、おおよそのピントを合わせます。
4）視野絞り開閉つまみ1を反時計方向に回して絞り径を最小付近まで絞込みます。(図22)
5）視野絞り心出しつまみ2(２ヶ)を回して、視野絞り像が接眼レンズ視野と同心になるように心出しします。(図22.23)
6）視野絞り開閉つまみ1を時計方向に回しながら、視野絞り像が視野に内接する大きさに視野絞りを開き、偏心している場合は再度心出しを行います。
7）絞り像が視野よりわずかに大きく(外接)なるまで絞りを開きます。

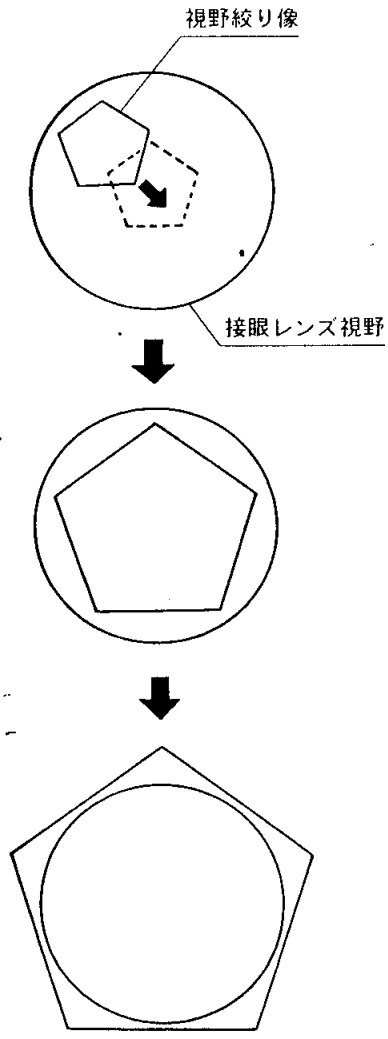



図 23

### 視野絞りの調整

コントラストのよい像を得るために、照明される範囲を調整します。また視野絞りは観察部位以外の蛍光の退色防止にも役立ちます。

使用する対物レンズに応じて、落射投光管の視野絞り開閉つまみ(1)で視野に絞り像が外接する程度に絞り込み、余分な光を遮断します。

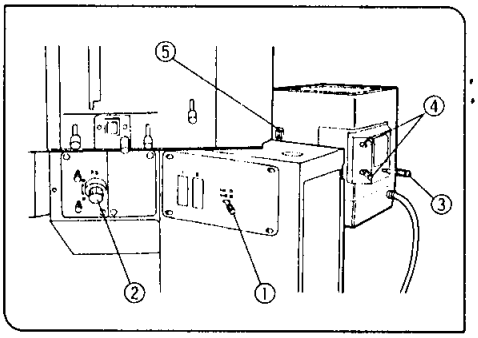


図 24

## 3 水銀ランプの心出し （図24,25）

1）コンバージョンレンズIN/OUTつまみ(1)を押込んでコンバージョンレンズを光路に入れて心出しします。
◎アークが安定してから行ってください。(点灯後5～10分)
◎ハンドスイッチの操作は、U-MCB画面でも同様に操作できます。
2）ハンドスイッチのSHUTを押して、励起光シャッタを光路へ挿入します。
3）ハンドスイッチのキューブ転換ボタンを押し、BまたはIB励起のキューブを光路に入れます。
（これらのキューブがない場合には蛍光用の他のキューブを光路に入れてください。）
★U励起のキューブで以下の操作は行わないでください。やむを得ずU励起のキューブで行う場合には、必ず紫外線カット板越しに見るようにしてください。
4）ハンドスイッチまたはU-MCBで10×対物レンズを光路に入れて、励起光シャッタを光路から外します。
5）接眼レンズを覗き、ステージ上に蛍光用心出しターゲット(図25)をセットし、十印を視野中心に合わせます。
6）10×対物レンズを取外します。
7）視野絞りに開閉つまみ(2)を時計方向に回し、絞りを開放状態にします。
8）ランプフォーカスつまみ(3)を時計方向へ一杯にねじ込みます。
9）心出しつまみ(4)を使用して明るい光を十印の中心にもってきます。

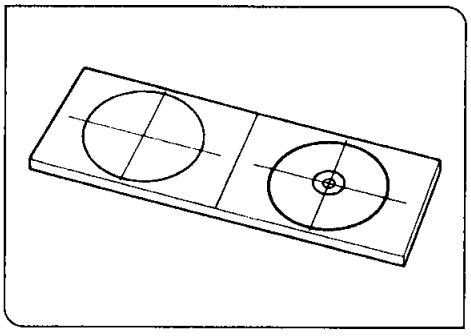


図 25

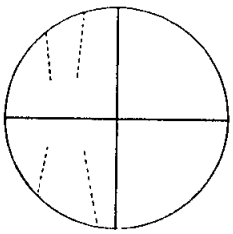


図26－A

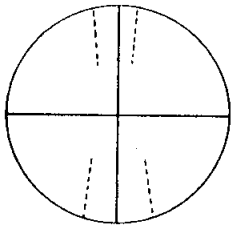


図26－B

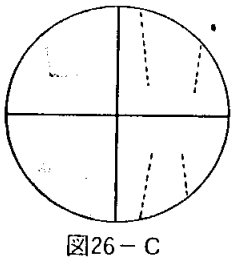


図26－C

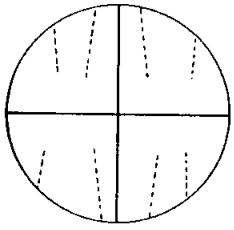


図26－D

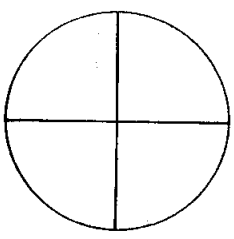


図26－E

10）コレクタレンズフォーカスつまみ⑤で、光を集光させます。
（図26－A）

11）心出しつまみ④で、光を視野のほぼ中心に移動させます。
（図26－A）

12）ランプフォーカスつまみ③を光の大きさが最も小さくなるまで反時計方向に回します。（図26－B）

13）心出しつまみ④を使用すると、光が２つに別れますので、図26－Cのような位置に２つの光を移動させます。

14）ランプフォーカスつまみ③を使用して２つの光の大きさがほぼ同じになるように調整します。（図26－D）

15）心出しつまみ④で２つの光を重ねた後、コレクタフォーカスつまみ⑤を回しますと図26－Eのようにアーク像が見え心出しは終了しました。
このときアーク像が若干中心からずれている場合がありますが、使用上は支障ありません。

16）観察時には、コレクタレンズフォーカスつまみ⑤を使用して観察視野の照明が均一になるように調整してから、観察を行ってください。

★点灯中及び消灯直後にランプハウスを開けることは、非常に危険ですので絶対に行わないでください。

◎心出しはランプ交換毎に行ってください。

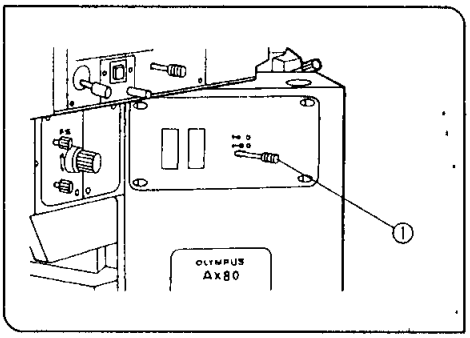


図 27

## 4 落射コンバージョンレンズ(AX－UCV)の使い方 (図 27)

◎主に物質の自家蛍光や蛍光染色、蛍光抗体法など蛍光観察時に中心の励起強度を増やすために使用します。
蛍光観察時にはIN状態にして使用してください。
コンバージョンレンズIN/OUTつまみ①を押し込むと光路に入り、ストッパ位置まで引くと光路から外れます。

★フィルタスライダを挿入したまま、水銀ランプを長時間点灯すると、フィルタスライダの金属枠の部分が熱くなるので注意してください。フィルタ交換時は、冷えるまで待ってください。

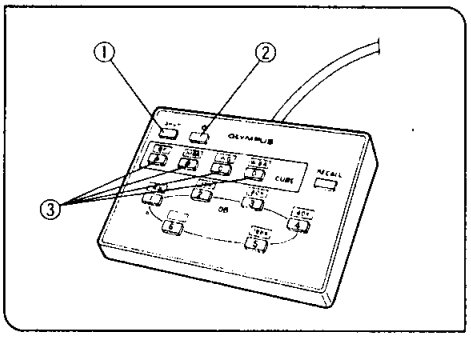


図 28

## 5 透過落射ハンドスイッチの使い方 (図 28)

◎対物レンズの転換、リコールボタンの操作はNo.2 観察編 をご参照ください。

1) 励起光シャッタボタン SHUT (1)を押すことで、シャッタの開閉を行います。点灯時シャッタ閉です。なお、シャッタ開状態でも対物レンズの転換、キューブ切換時には自動的にシャッタを閉にし、標本の退色防止及び安全性を確保しています。
2) 照明ボタン(2)を押すことで、透過照明ランプのON・OFFが手元で行えます。
3) 必要なキューブボタン(3)を押すと光路に入ります。

### ハンドスイッチU－HSTRキューブボタンについて

MAIN操作画面の MICROSCOPY でMULTIモードが設定されている場合、キューブの設定条件により次のケースが発生します。

1) キューブボタンで落射蛍光キューブを選択する場合
MULTIモードのままキューブのみが切換わります。
2) その他のキューブを選択する場合
・一度蛍光以外のキューブを選択すると、MULTIモードが解除され、そのキューブで観察可能な検鏡モードに自動的に切換わります。
(ex. U－MBF・落射明視野・U－MDICT・透過DIC)
・その後、落射蛍光キューブを選択しても、MULTIモードにはもどらずEPI(落射)モードでキューブが切換わります。

※キューブに空キューブ(NONE)を設定している場合は、INIT操作画面の「ハンドスイッチ(U－HSTR)の透過検鏡法設定」で設定されているDIA(透過)検鏡モードに自動的に切換わります。

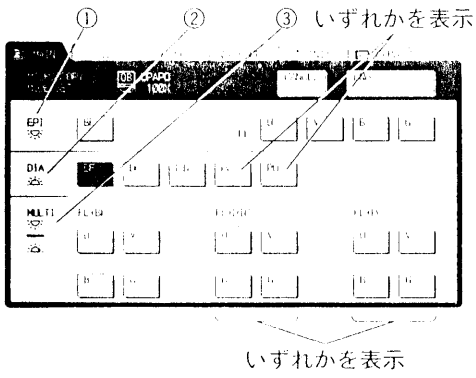



図 29

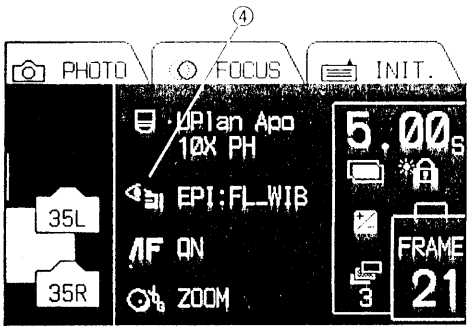



図 30

## 6 マルチコントロールボックス(U−MCB)の操作

◎ここでは落射蛍光に関連する操作部分のみ、ご説明します。その他は、No. 2 観察編 をご参照ください。

検鏡法設定(MICROSCOPY)

1) MAIN操作画面の MICROSCOPY を押すと、図29の検鏡法設定の画面となります。

2) 検鏡法を選択し、END を押すと、その検鏡法に切換わります。

1 EPI……落射照明のみの検鏡

2 DIA……透過照明のみの検鏡

3 MULTI……透過／落射同時照明検鏡

また、対物レンズが検鏡法に適合していない場合は、適合対物レンズに自動的に切換わります。

★検鏡法はINIT操作画面のOB. UCD. CUBEの設定により自動的に認識していますので、初期設定がされていないと画面表示がない場合があります。

3) 選択された検鏡法はMAIN操作画面の4の所に表示されます。(図30)

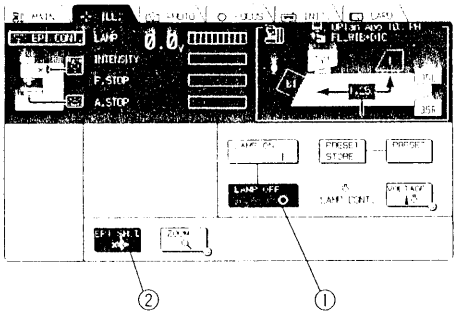



図 31

落射照明選定のILL操作画面

1）MAIN操作画面で[MICROSCOPY]を押し、EPIのいずれかを選択している時は、図31のILL操作画面となります。

・落射照明に水銀ランプ(Hg)が接続されているので、LAMP CONT.は[LAMP OFF]①のままで機能しません。

・[EPI SHUT]②を押すことで、励起光シャッタのON/OFFを行えます。
ハンドスイッチの[SHUT]と同機能です。

2）MAIN操作画面で[MICROSCOPY]を押し、MULTIのいずれかを選択している時は、図32のILL操作画面となります。

・照明切換スイッチ③により[EPI CONT.]と[DIA CONT.]の照明コントロールの切換えが行えます。
[DIA CONT.]の場合、図32の表示となり、操作方法は、No.2[観察編]と同様となります。

・[EPI CONT.]の場合は図33のように表示されます。

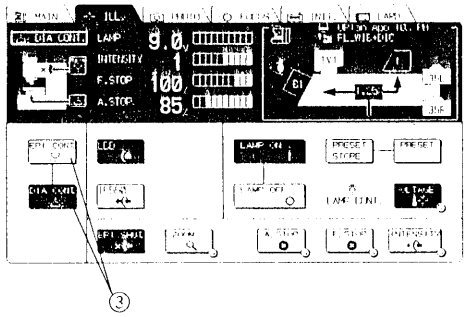



図 32

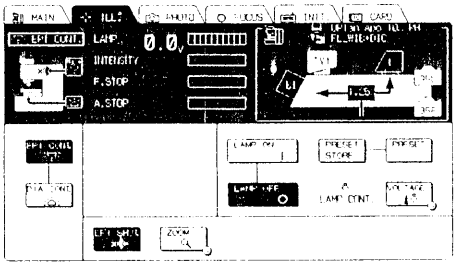


図 33

## 7 各観察法と対物レンズの組合わせ一覧表

| 対物レンズ | | 落射蛍光 U, V, BV | 落射蛍光 B, IB, G, IY | 位相差 | ノマルスキー微分干渉 |
|---|---|---|---|---|---|
| UPlanAPO | 4× | ○ | ○ | – | – |
| | 10× | ○ | ○ | ○** | ○ |
| | 20× | ○ | ○ | ○** | ○ |
| | 40× | ○ | ○ | – | ○ |
| | 40×OI | ○ | ○ | ○** | ○ |
| | 100×OI | ○ | ○ | ○** | ○ |
| PlanApo | 1.25× | – | – | – | – |
| | 2× | – | – | – | – |
| | 40× | – | ○ | – | – |
| | 100×O | – | ○ | – | – |
| UPlanFl | 4× | ○* | ○* | – | – |
| | 10× | ○* | ○* | ○** | ○ |
| | 20× | ○* | ○* | ○** | ○ |
| | 40× | ○* | ○* | ○** | ○ |
| | 100×O, OI | ○ | ○ | ○** | ○ |
| UApo/340 | 20× | ○ | ○ | – | ○ |
| | 40× | ○ | ○ | – | ○ |
| | 40×OI | ○ | ○ | – | ○ |

○　：使用可能な組合わせ

○*　：使用可能ですがNAの違いによりやや暗くなります。

○**：位相差観察には位相差用の対物レンズ(Ph)が必要です。

－　：使用できないか対応する対物がない組合わせ

## 8 キューブの選定

キューブは色素に合った励起のものを選択してください。

◎励起の帯域幅による使い分けについて

励起によっては帯域幅の異なる励起フィルタ組合わせのセットをいくつか用意しているものがあります。
通常は広帯域(W)のセットを使いますが、以下の場合には別のセットを用いた方がよい場合があります。

①蛍光の明るさが暗い場合(B, G励起のみ) ——→ 超広帯域(SW)に
※SWBの場合、蛍光色素以外の物質から出る蛍光が強くなることがあります。

②蛍光色素以外の物質から出る蛍光が強い場合 ——→ 狭帯域(N)に
※蛍光の明るさはやや暗くなります。

キューブのダイクロイックミラー・フィルタ組合わせ一覧

| 励起法 | キューブ名 | ダイクロイックミラー | 励起フィルタ | 吸収フィルタ | 用途 |
|---|---|---|---|---|---|
| U | U-MWU | DM400 | BP330-385 | BA420 | ・物質の自家蛍光観察<br>・DAPI染色：DNA<br>・hoechest 33258, 33342染色：染色体 |
| | U-MNU | | BP360-370 | | |
| V | U-MNV | DM455 | BP400-410 | BA455 | ・Catecholamine観察<br>・serotonin観察<br>・tetracyline染色：骨、歯 |
| BV | U-MWBV | DM455 | BP400-440 | BA475 | ・quinacrine, quinacrine mustard 染色：染色体<br>・thioflavineS染色：リンパ球<br>・acriflavine染色：核酸 |
| | U-MNBV | | BP420-440 | | |
| B | U-MWB | DM500 | BP450-480 | BA515 | ・FITC染色：蛍光抗体法<br>・acridine orange染色：DNA, RNA<br>・auramine染色：結核菌 |
| | U-MNB | | BP470-490 | | |
| | U-MSWB | | BP420-480 | | |
| IB | U-MWIB | DM505 | BP460-490 | BA515IF | |
| | U-MNIB | | BP470-490 | | |
| G | U-MWG | DM570 | BP510-550 | BA590 | ・rhodamine, TRITC染色：蛍光抗体法<br>・propidium iodide染色：DNA |
| | U-MNG | | BP530-550 | | |
| | U-MSWG | | BP480-550 | | |
| IG | U-MWIG | DM565 | BP520-550 | BA580IF | |
| IY | U-MWIY | DM600 | BP545-580 | BA610IF | texas red 染色：蛍光抗体法 |

色素分離用

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| U | U-MNUA | DM400 | BP360-370 | BA420-460 | U励起用色素とFITCの多重染色時、U励起用色素のみ観察 |
| IB | U-MWIBA | DM505 | BP460-490 | BA515-550 | FITCとTRITCまたはtexas red の多重染色時、FITCのみ観察 |
| | U-MNIBA | | BP470-490 | | |

キューブ名の意味

U - M N I B A

全キューブ共通

A：色素分離用
励起法（U、V、BV、B、IB、G、IG、IY）
帯域幅 SW：超広帯域 W：広帯域 N：狭帯域

2 励起同時キューブ(デュアルバンドフィルタキューブ)受注生産品

| 対　応　色　素 | キューブ名 |
|---|---|
| DAPI/FITC | U－MDA/FI |
| DAPI/TRITC | U－MDA/TRITC |
| DAPI/texas red, DAPI/propidium iodide | U－MDA/TX |
| FITC/TRITC | U－MFI/TRITC |
| FITC/texas red, FITC/propidium iodide | U－MFI/TX |

3 励起同時キューブ(トリプルバンドフィルタキューブ)受注生産品

| 対　応　色　素 | キューブ名 |
|---|---|
| DAPI/FITC/TRITC | U－MDA/FI/TRI |
| DAPI/FITC/texas red, DAPI/FITC/propidium iodide | U－MDA/FI/TX |

# 7

## 7-1　落射蛍光観察

◎落射蛍光観察手順の要約(18頁)をご参照ください。

★透過用微分干渉プリズムU-DICT，アナライザAX-ANを取付けている場合は、それぞれクリック位置まで引出し、光路より外します。

1）標本に合ったキューブを選択します。
- ハンドスイッチにより必要キューブを光路に入れます。
- MAIN操作画面の[MICROSCOPY]を押し、EPI-FLの必要キューブを選択します。

2）対物レンズを選択します。
- ハンドスイッチまたは、MAIN操作画面で対物レンズを選択します。

★蛍光に使用できない対物レンズは、選択しても切換わりません。

3）励起光シャッタを開いて、標本にピントを合わせる。
- ハンドスイッチの[SHUT]を押してシャッタを開きます。

4）コレクタレンズフォーカスつまみを調整して、視野全体が均一に最も明るくなるように調整します。

5）視野絞りを調整したい場合は、視野絞り開閉つまみを手動で調整します。

この装置は暗い蛍光標本でも明るく観察できるように、励起光の強度を強くしてあります。
そのため、高倍の対物レンズで観察を行っていると退色が早く起こり蛍光像の見え(コントラスト)が低下する場合があります。
このような場合には、励起光の強度をある程度弱めると退色が遅くなり良好な蛍光像が得られます。
観察に支障がない範囲でNDフィルタを使用して励起光強度を落としたり、必要以上に標本に光源を当てないように励起光シャッタをご活用ください。
また、市販の退色防止剤(DABCOなど)を使用することにより、標本の退色を遅らせることができます。
特に高倍観察を行う場合には退色防止剤の併用をお勧めします。
★標本によっては退色防止剤が使えない場合がありますのでご注意ください。

★この装置では落射蛍光観察のほかに透過明視野観察、透過位相差観察、透過微分干渉観察などの組合わせもできます。特に退色の早い標本に対しては、位相差観察または微分干渉観察で最初に位置出しすることによって標本の退色を最小限に抑えることができます。また、落射蛍光一位相差、あるいは落射蛍光一微分干渉の同時観察も可能であり、細胞などの、どの部分で発蛍光があるかが一目瞭然に観察できます。

## 7-2 落射蛍光と位相差の同時観察

★透過用微分干渉プリズムU-DICT，アナライザAX-ANを取付けている場合は、それぞれクリック位置まで引出し、光路より外します。

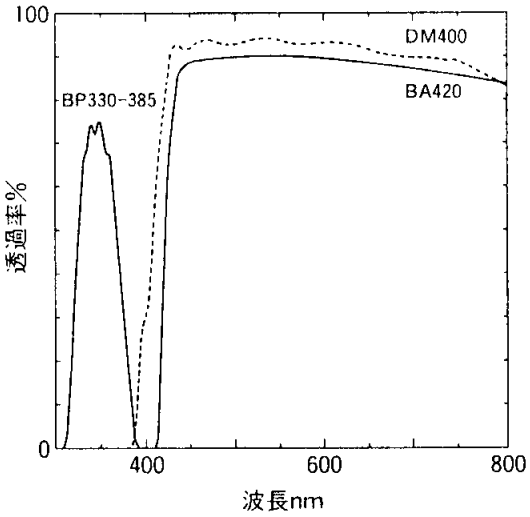
1) MAIN操作画面の[MICROSCOPY]を押し、DIA [PC]を押します。
2) 対物レンズを選択します。
・ハンドスイッチまたはMAIN操作画面で位相差対物レンズを選択します。透過照明系が自動的に適正値に設定されます。
3) 標本をセットし、ピント合わせを行い、リングスリットとフェーズプレートとの心出しを行います。
4) MAIN操作画面の[MICROSCOPY]を押し、MULTI-FL+PCの必要キューブを選択します。これで同時観察状態となります。
5) 蛍光と位相差の明るさのバランスが最良になるように、透過光量を調節します。
・ILL操作画面の[DIA-CONT]を押し、[INTENSITY]または[VOLTAGE]を押し、JOGダイヤルで調節します。

## 7-3 落射蛍光と透過ノマルスキー微分干渉の同時観察

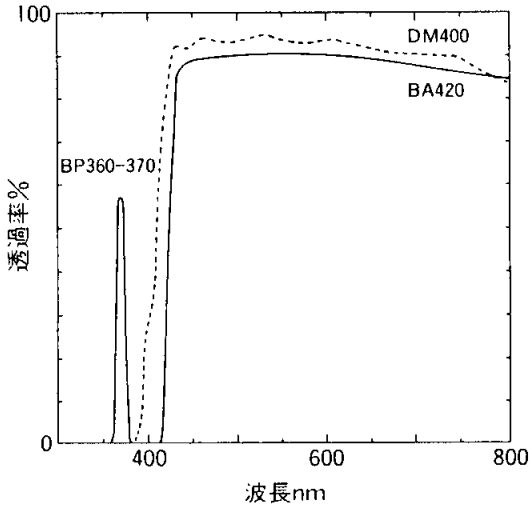
◎透過用微分干渉プリズムU-DICT，アナライザAX-ANをそれぞれクリック位置まで押込んで、光路に入れます。

1) MAIN操作画面の[MICROSCOPY]を押し、DIA [PO]を押します。
2) コンデンサのポラライザの調整を行い、クロスニコル状態にします。
3) MAIN操作画面の[MICROSCOPY]を押し、DIA [DIC]を押します。
4) 対物レンズをハンドスイッチまたはMAIN操作画面で選択します。
・透過照明系が自動的に適正値に設定されます。
5) 標本をセットし、ピント合わせを行い、微分干渉プリズムU-DICTのプリズム移動つまみを回して微分干渉像のコントラストを調整します。
6) MAIN操作画面の[MICROSCOPY]を押し、MULTI-FL+DICの必要キューブを選択します。これで同時観察状態となります。
7) 蛍光と微分干渉像の明るさのバランスが最良になるように、透過光量を調節します。
・ILL操作画面の[DIA-CONT]を押し、[INTENSITY]または[VOLTAGE]を押し、JOGダイヤルで調節します。

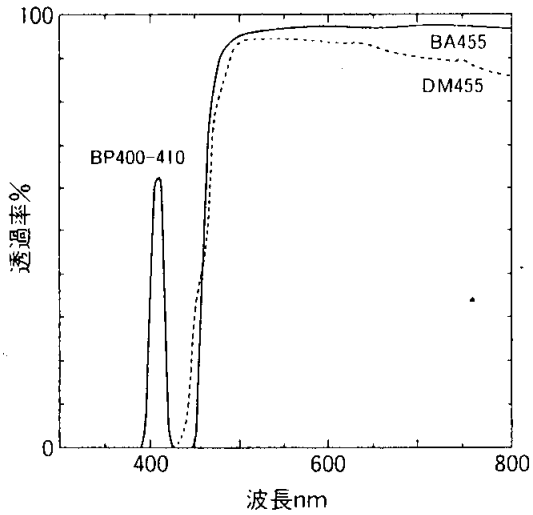
1. U励起(広帯域) U－MWU



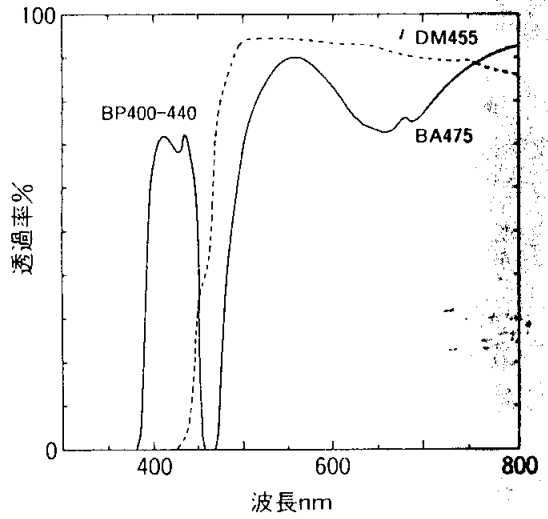

2. U励起(狭帯域) U－MNU



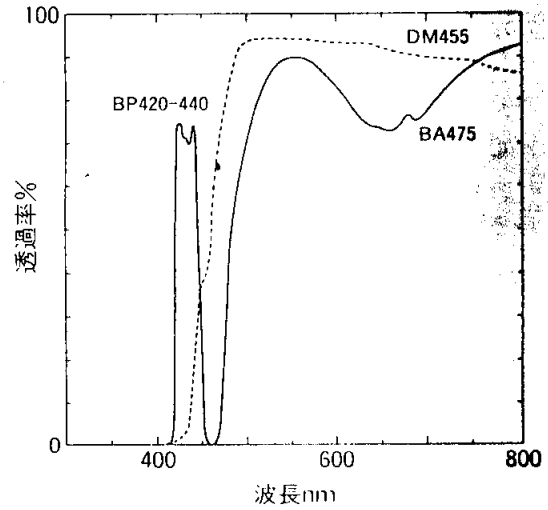

3. V励起(狭帯域) U－MNV



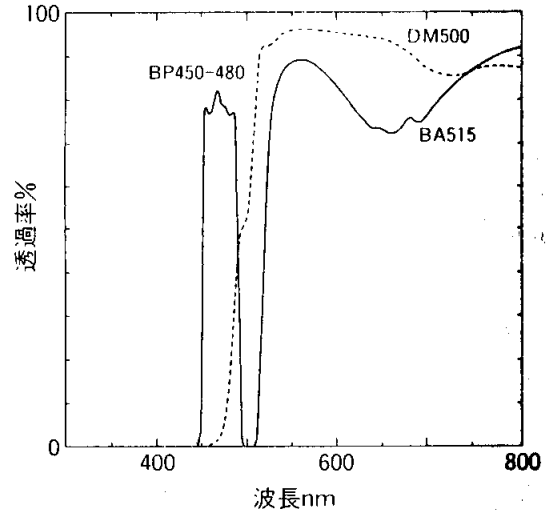

4. BV励起(広帯域) U－MWBV



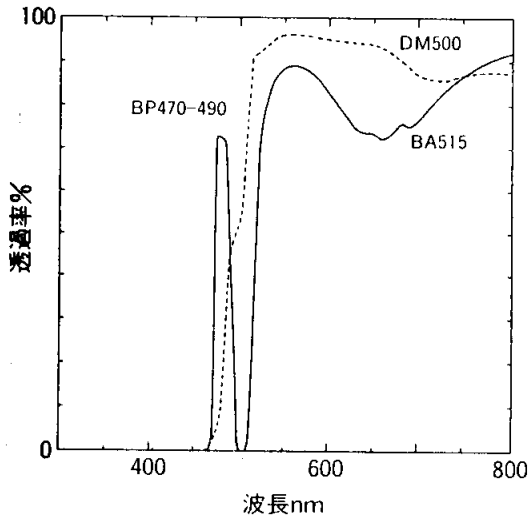

5. BV励起(狭帯域) U－MNBV



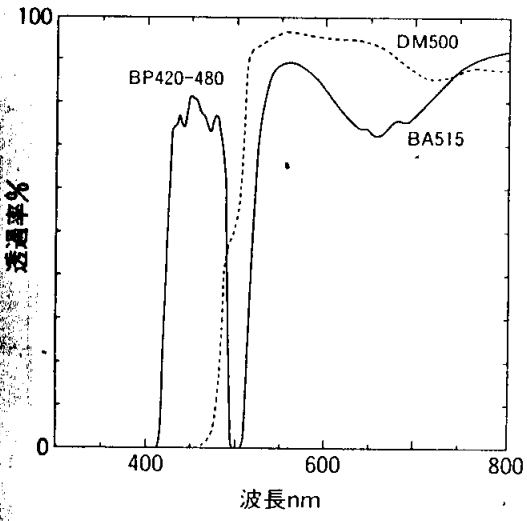

6. B励起(広帯域) U－MWB



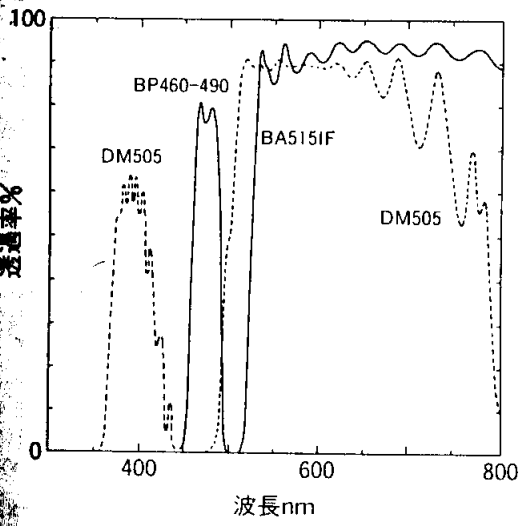
### 7. B励起(狭帯域) U-MNB



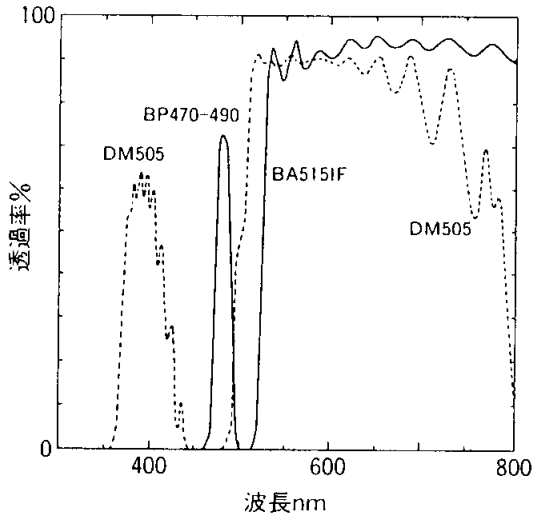

### 8. B励起(超広帯域) U-MSWB



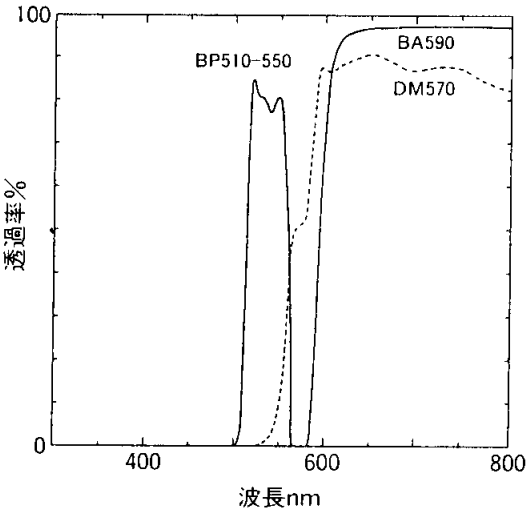

### 9. IB励起(広帯域) U-MWIB



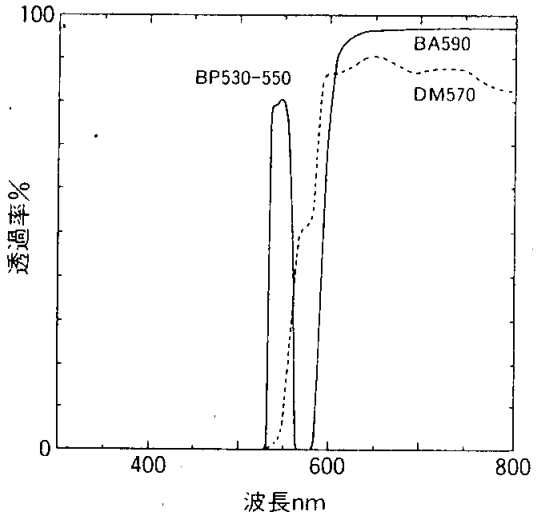

### 10. IB励起(狭帯域) U-MNIB



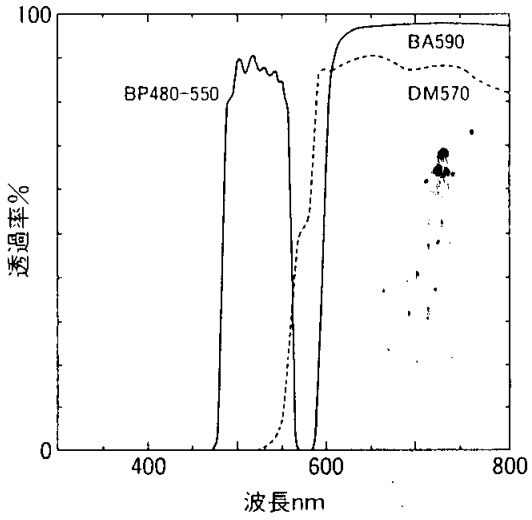

### 11. G励起(広帯域) U-MWG



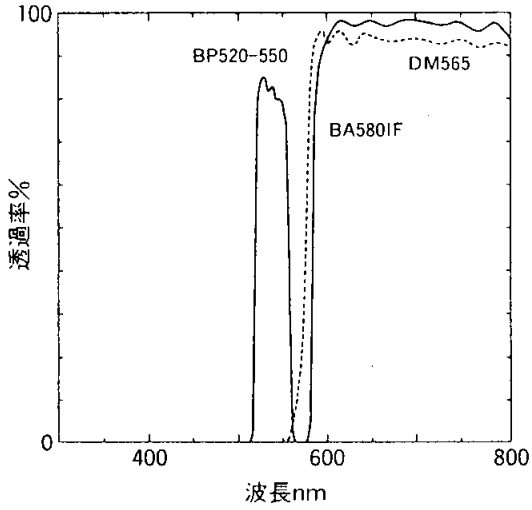

### 12. G励起(狭帯域) U-MNG



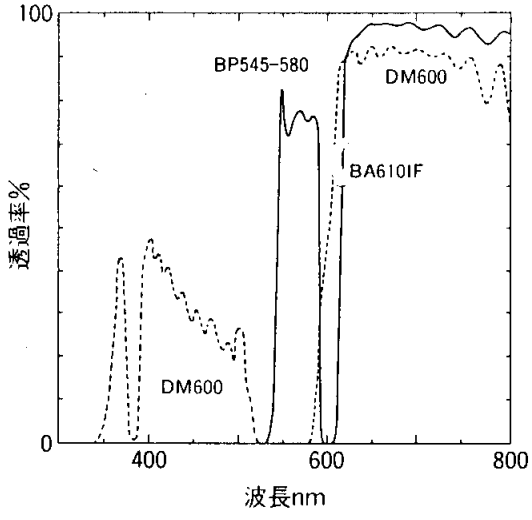
13. G励起(超広帯域) U－MSWG



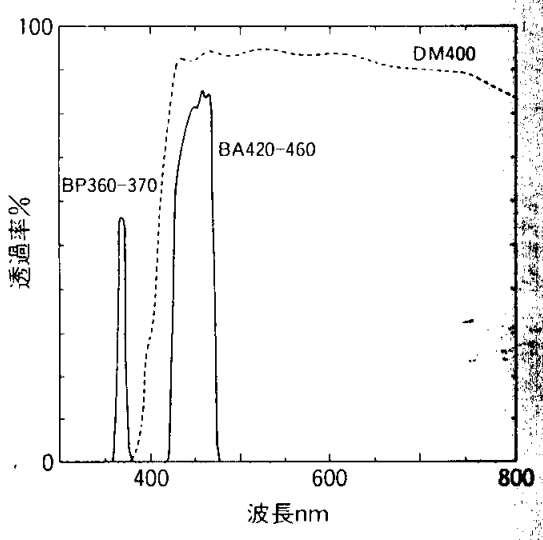

14. IG励起(広帯域) U－MWIG



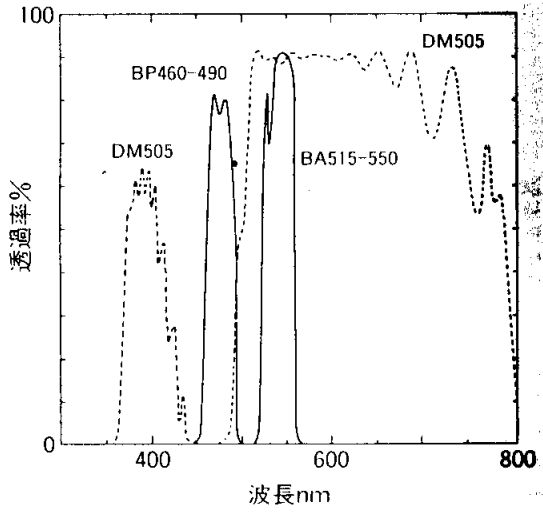

15. IY励起(広帯域) U－MWIY



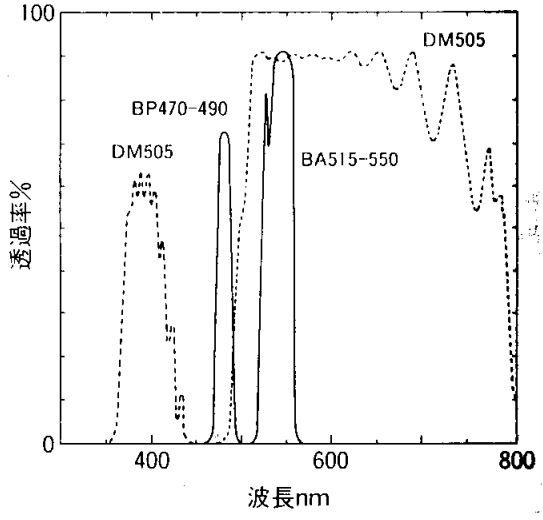

16. 色素分離用 U励起(狭帯域) U－MNUA



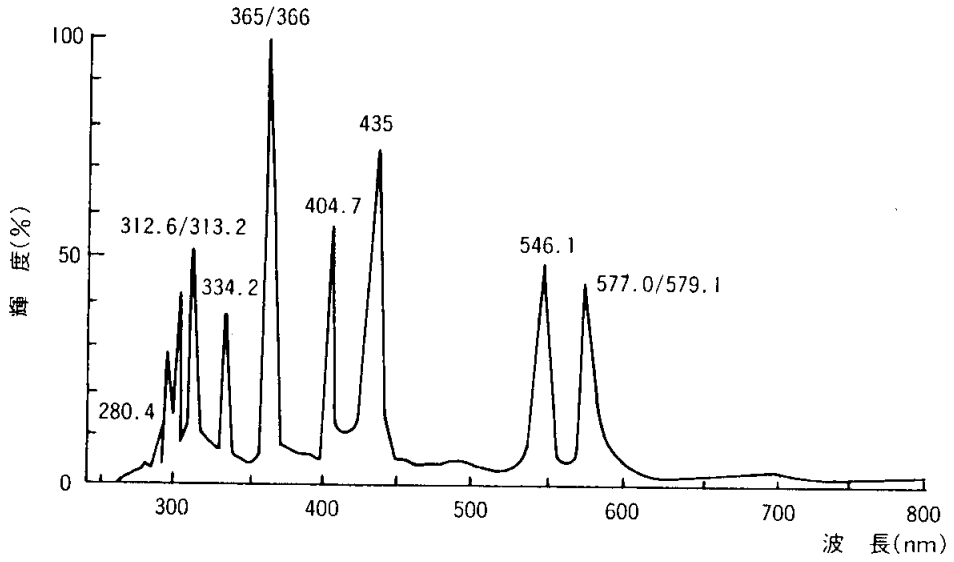

17. 色素分離用 IB励起(広帯域) U－MWIBA




18. 色素分離用 IB励起(狭帯域) U－MNIBA



超高圧水銀ランプの発光スペクトルの代表例




多数の波長光の中から特定の波長のものが選ばれて蛍光色素の発光に利用される。その主要な光線は波長365/366,404.7,435及び546.1及び577.0/579.1nmの５種類で、その他輝度は低いが334.2と490nmの波長光も利用される。

# 9

使い方により故障ではありませんが性能を発揮できない場合があります。問題が発生した場合は、以下を参考にされて適切な処置をとってください。

## 落射蛍光観察

| 現　　象 | 原　　因 | 処　　置 |
|---|---|---|
| 1．光学系 | | |
| a. ランプは点灯しているが接眼レンズ部で見えない。または、暗い。 | 励起光シャッタが閉じている。 | 励起光シャッタを開けてください。 |
| | NDフィルタが光路に入っている。 | 必要に応じてNDフィルタを外してください。 |
| | フィルタスライダがクリック位置にない。 | クリック位置で止めてください。 |
| | 視野絞りが十分開いていない。 | 視野絞りを視野に外接するまで開いてください。 |
| | 標本に合ったキューブを使っていない。 | 標本に合ったキューブを使ってください。 |
| b. 見えが悪い。像がシャープでない。コントラストが悪い。 | 対物レンズ、フィルタが汚れている。 | 清掃してください。 |
| | 視野絞りの開口が適切でない。 | 視野絞りは、視野に外接する程度に絞ってください。 |
| | 標本に合ったキューブを使っていない。 | 標本に合ったキューブを使ってください。 |
| c. 視野がケラレる。あるいは視野が、一様に明るくない。 | 視野絞りを絞りすぎている。 | 視野絞りを十分開いてください。 |
| | フィルタスライダがクリック位置にとまっていない。 | フィルタスライダを確実にクリック位置で止めてください。 |
| | 水銀ランプの心出しまたはフォーカシング不良 | 心出しまたはフォーカシング調整をしてください。 |
| d. 視野に斑点状の暗い部分がある。 | ランプまたはコレクタレンズのランプ側の面にゴミ、汚れが付着している。 | 清掃してください。 |
| 2．電気系 | | |
| a. メインスイッチが点灯しない。 | 電源コードの接続が不確実である。 | 確実に接続してください。 |
| b. メインスイッチは点灯するが、水銀ランプが点灯しない。 | コネクタ類の接続が不確実である。 | 確実に接続してください。 |
| | ランプを取付けていない。 | ランプを取付けてください。 |
| | ランプハウスの安全装置が作動している。 | ランプソケットを確実にセットしてください。 |
| | オートイグニッションが作動不良を起こしている。 | 電源装置のメインスイッチを一旦切り再度ONさせてください。（繰返しON, OFF可能） |
| c. ランプがちらつく。または、ランプが暗い。 | 点灯して間もない。 | 点灯後10分以上経過させてください。 |
| | ランプが寿命に達している。 | ライフメータが200Hrs. を超えている場合は、水銀ランプを交換してください。（ランプ寿命は200時間です） |

**修理の依頼について**

前頁の処置を行った後も、現象が改善されない場合は、お買い求めいただきました販売店へご連絡ください。
なお、その際に下記の事項を併わせてご連絡ください。

- 製品名
- 製品番号
- 現象

OLYMPUS
TOKYO

# OLYMPUS®


オリンパス光学工業株式会社
〒151 東京都渋谷区幡ヶ谷2-43-2


販売元/オリンパス販売株式会社

支店・営業所所在地

| | | | |
|---|---|---|---|
| 東京 | 〒101 | 東京都千代田区神田駿河台3－4 | 龍名館ビル ☎03(3251)8971 |
| 札幌 | 〒060 | 札幌市中央区北三条西4丁目 | 日本生命札幌ビル ☎011(222)2551 |
| 盛岡 | 〒020-01 | 盛岡市安倍館町18－24 | キャステール安倍館 ☎0196(47)4670 |
| 仙台 | 〒980 | 仙台市青葉区1番町1－3－1 | 日本生命仙台ビル ☎022(223)7821 |
| つくば | 〒305 | つくば市梅園2－7－3 | つくばシティービル ☎0298(58)2963 |
| 大宮 | 〒331 | 大宮市桜木町1－7－5 | ソニックシティビル ☎048(644)8122 |
| 横浜 | 〒220 | 横浜市西区北幸1－7－2 | 横浜駅西口ビル ☎045(311)2028 |
| 静岡 | 〒420 | 静岡市追手町1－6 | 日本生命静岡ビル ☎054(255)6245 |
| 新潟 | 〒950 | 新潟市東大通り1－2－23 | 北陸ビル ☎025(245)7339 |
| 松本 | 〒390 | 松本市深志1－2－11 | 松本昭和ビル ☎0263(36)5333 |
| 金沢 | 〒920 | 金沢市香林坊1－2－24 | 千代田生命金沢ビル ☎0762(22)3434 |
| 名古屋 | 〒460 | 名古屋市中区錦2－19－25 | 日本生命広小路ビル ☎052(201)9601 |
| 大阪 | 〒542 | 大阪市中央区南船場2－12－26 | オリンパス大阪センター ☎ 06(252)6695 |
| 京都 | 〒604 | 京都市中京区烏丸御池下ル虎屋町566－1 | リクルート明治生命ビル ☎075(255)2316 |
| 神戸 | 〒650 | 神戸市中央区京町71 | 山本ビル ☎078(331)3377 |
| 高松 | 〒760 | 高松市天神前10－5 | 高松セントラルスカイビル ☎0878(33)0670 |
| 松山 | 〒790 | 松山市三番町7丁目1－21 | 協栄生命松山ビル ☎0899(31)5543 |
| 岡山 | 〒700 | 岡山市表町1－5 | 岡山シンフォニービル9F ☎086(233)0366 |
| 広島 | 〒730 | 広島市中区八丁堀16－11 | 日本生命広島第2ビル ☎082(228)1921 |
| 福岡 | 〒810 | 福岡市中央区天神1－14－1 | 日本生命福岡ビル ☎092(711)1881 |
| 南九州 | 〒892 | 鹿児島市加治屋町12－7 | 日本生命加治屋町ビル ☎0992(24)7820 |

取扱販売店名

| | |
|---|---|
| 住　所 | |
| 店　名 | |
| 担当者 | |


この印刷物は再生紙を使用しています
Printed in Japan 9410 M 01